



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

MONIQUE FERRAZ PEREIRA

**ELABORAÇÃO DE GUIA PARA DETERMINAÇÃO DE SOLVENTES RESIDUAIS
EM IFA'S E PRODUTOS FARMACÊUTICOS: UM ESTUDO DE CASO COM
DAPSONA**

Recife
2024

MONIQUE FERRAZ PEREIRA

**ELABORAÇÃO DE GUIA PARA DETERMINAÇÃO DE SOLVENTES RESIDUAIS
EM IFA'S E PRODUTOS FARMACÊUTICOS: UM ESTUDO DE CASO COM
DAPSONA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Fármacos e Medicamentos.

Orientador (a): Dr. José Lamartine Soares Sobrinho

Recife

2024

MONIQUE FERRAZ PEREIRA

**ELABORAÇÃO DE GUIA PARA DETERMINAÇÃO DE SOLVENTES RESIDUAIS
EM IFA'S E PRODUTOS FARMACÊUTICOS: UM ESTUDO DE CASO COM
DAPSONA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Ciências Farmacêuticas, na área de concentração Fármacos e Medicamentos

Aprovada em: 29/05/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr^a. Júlia Moraes Fernandes (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Lucas José de Alencar Danda (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gratidão pôr tudo a Deus, pelo dom da vida, pela força que renovo a cada dia, pelo conforto das suas palavras, pela saúde que brota dentro de mim e pela fé que enche meu coração de um futuro reconhecimento profissional.

Aos meus pais José Orlando Pereira e Edivane Ferraz Pereira pelo meu desenvolvimento educacional em todos os anos da minha vida, por acreditar sempre no meu potencial, mesmo sem eu mesmo acreditar, pelo suporte patriarcal e maternal nesses anos todos, inclusive no nascimento da minha filha.

Ao meu Esposo Leonardo José Campelo Salles que a todo momento esteve presente na minha vida, nas dificuldades e conquistas, no apoio financeiro, no conforto proporcionando para eu não desistir diante das dificuldades, pelo companheirismo, pelo amor e na compreensão da importância do profissionalismo na minha vida.

A minha amada filha Marianne Campelo Ferraz Pereira pelo entendimento das minhas ausências em alguns momentos de sua vida para estudar e trabalhar, pelo amor verdadeiro de mãe e filha, pelo choro mais feliz da minha vida ao ouvi-la pela primeira vez ao nascer, por eu acordar todos os dias pensando em fazer o seu dia melhor, pelo seu aconchego de filha e ser essa pessoa tão especial em minha vida.

Ao meu Professor Orientador Dr. José Lamartine Soares Sobrinho por acreditar no meu desempenho acadêmico durante todo o mestrado, além da sua dedicação em ajudar no desenvolvimento do projeto. e, a pesquisadora de pós-doutorado Dra. Luise Lopes pela ajuda na escrita do trabalho.

RESUMO

Os medicamentos são alvos da vigilância sanitária por serem substâncias que podem colocar risco a saúde dos pacientes quando não são fabricados de acordo com as boas práticas de fabricação. O risco pode ocorrer devido ao surgimento de impurezas residuais durante a síntese do produto é um dos grandes vilões do padrão de qualidade dos medicamentos. O seu monitoramento precisa de métodos analíticos capazes de identificar e quantificar essas substâncias para promover uma otimização de serviços entre os setores de controle de qualidade e produção, a fim de promover excelência na qualidade. Os solventes residuais são impurezas orgânicas voláteis, subprodutos da fabricação de medicamentos onde a sua identificação é mais eficaz em equipamentos sofisticados e de alta tecnologia. As diretrizes do ICH e os maiores órgãos compendias farmacêuticos do mundo sugerem a técnica de cromatografia gasosa para o monitoramento dos solventes residuais em produtos farmacêuticos, além de classificá-los de acordo com o risco a sua exposição diária em classe 1, 2 e 3. O objetivo do trabalho foi elaborar um guia com diretrizes para desenvolvimento de métodos analíticos para análises de solventes residuais em medicamentos baseados na farmacopeia Brasileira e Americana associado às diretrizes do ICH e também, promover um estudo de caso através da aplicação do protocolo guiado na determinação de solventes residuais do IFA dapsona. O guia é dividido em procedimentos para amostras solúveis, insolúveis em água e na subdivisão em procedimentos tipo A, B, C e procedimentos alternativos. Os procedimentos mencionados possuem finalidades de identificação, confirmação e quantificação respectivamente. O protocolo desenvolvido foi possível verificar a aplicabilidade do guia como documento base na elaboração dos métodos analíticos para solventes residuais em produtos farmacêuticos. O método alternativo desenvolvido foi estável, seletivo e reprodutível durante toda a corrida, sendo necessário à sua validação para a demonstração da confiabilidade dos resultados.

Palavras-chave: impurezas orgânicas voláteis; solventes residuais; desenvolvimento de método analítico; cromatografia gasosa, ICH.

ABSTRACT

Medicines are targets of health surveillance because they are substances that can pose a risk to patients' health when they are not manufactured in accordance with good manufacturing practices. The risk may occur due to the appearance of residual impurities during the synthesis of the product, which is one of the great villains of the quality standard of medicines. Its monitoring requires analytical methods capable of identifying and quantifying these substances to promote optimization of services between the quality control and production sectors, in order to promote excellence in quality. Residual solvents are volatile organic impurities, by-products of the manufacture of medicines where their identification is more effective in sophisticated and high-tech equipment. The ICH guidelines and the largest pharmaceutical compendial bodies in the world suggest the gas chromatography technique for monitoring residual solvents in pharmaceutical products, in addition to classifying them according to the risk of daily exposure into classes 1, 2 and 3. The objective of the work was to develop a guide with guidelines for the development of analytical methods for the analysis of residual solvents in medicines based on the Brazilian and American pharmacopoeia associated with the ICH guidelines and also to promote a case study through the application of the guided protocol in determining residual solvents of the IFA dapsona. The guide is divided into procedures for soluble and water-insoluble samples and subdivided into procedures type A, B, C and alternative procedures. The aforementioned procedures have identification, confirmation and quantification purposes respectively. The protocol developed made it possible to verify the applicability of the guide as a base document in the development of analytical methods for residual solvents in pharmaceutical products. The alternative method developed was stable, selective and reproducible throughout the run, requiring validation to demonstrate the reliability of the results.

Keywords: volatile organic impurities; residual solvents; analytical method development; gas chromatography; ICH.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Pico de impureza orgânica de etanol em Succinato de Metoprolol....	25
Figura 2 –	Picos dos padrões de trabalhos e branco utilizando o método genérico HSGC-FID desenvolvido para a separação de 27 solventes residuais.	26
Figura 3 –	Partes componentes da instrumentação de um cromatógrafo gasoso.	34
Figura 4 –	Partes componentes da instrumentação de um cromatógrafo gasoso.	34
Figura 5 –	Sistema de Injeção do CG.	36
Figura 6 –	Colunas para GC Agilent J&W.....	38
Figura 7 –	Coluna capilar acomodada no forno cromatográfico.....	39
Figura 8 –	Detector de ionização de chama (FID).....	41
Figura 9 –	Câmara de headspace do cromatógrafo gasoso Agilent 8860.	42
Figura 10 –	Tempo de retenção de analitos e resoluções de picos.	44
Figura 11 –	Assimetria dos picos.	46
Figura 12 –	Relação Pico/Vale.....	46
Figura 13 –	Fluxograma referente à identificação de solventes residuais e a aplicação das análises.	61
Figura 14 –	Ilustração da preparação das Soluções Padrão Estoque Classe 1 e Padrão Classe 1 para análises em materiais solúveis em água.	68
Figura 15 –	Ilustração da preparação das Soluções Padrão Estoque da Classe 2 Mistura (A e B) e Solução Padrão da Classe 2 Mistura (A e B) para análises em materiais solúveis em água.....	69
Figura 16 –	Ilustração da preparação das Soluções Amostra Estoque, Solução Amostra e Solução Adequabilidade do sistema da classe 1 para análises em materiais solúveis em água.....	70
Figura 17 –	Ilustração da preparação das Soluções Padrão Estoque, Solução Padrão e Solução Amostra com uma quantidade conhecida adicionada para quantificação de solventes residuais para análises em materiais solúveis em água.	76
Figura 18 –	Ilustração da preparação das Soluções Padrão Estoque Classe 1 e Padrão Classe 1 para análises em materiais insolúveis em água.	79

Figura 19 –	Ilustração da preparação das Soluções Padrão Mistura Estoque Classe 2 e Padrão Mistura A da Classe 2 e Mistura B da Classe 2 para análises em materiais insolúveis em água.	79
Figura 20 –	Ilustração da preparação das Soluções Amostra Estoque, Solução Amostra e Solução Adequabilidade do sistema da classe 1 para análises em materiais insolúveis em água.	80
Figura 21 –	Cromatógrafo Gasoso da Solução Padrão dos solventes residuais da Dapsona.....	102

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	– Classe de solventes residuais orgânicos e sua avaliação de risco....	27
Quadro 2	– Solventes residuais de classe 1, limites de concentração em ppm e grau de risco.	27
Quadro 3	– Solventes residuais de classe 2, limites de concentração em ppm e grau de risco.	29
Quadro 4	– Solventes residuais de classe 3.	30
Quadro 5	– Outros Solventes Residuais.	30
Quadro 6	– Tabela dos gases utilizados na cromatografia gasosa.	35
Quadro 7	– Artigos de metodologia analítica para identificação e quantificação de impurezas orgânicas voláteis em CG.	54
Quadro 8	– Opções de escolha para determinação de solventes residuais em produtos farmacêuticos.	58
Quadro 9	– Parâmetros operacionais para o Headspace.	66
Quadro 10	– Procedimento A - Condições cromatográficas para amostras solúveis em água.	71
Quadro 11	– Procedimento A - Rampa de aquecimento.	71
Quadro 12	– Procedimento B - Condições cromatográficas para amostras solúveis em água.	73
Quadro 13	– Procedimento B - Rampa de aquecimento.	74
Quadro 14	– Procedimento A - Condições cromatográficas para amostras insolúveis em água.	81
Quadro 15	– Procedimento A- Rampa de aquecimento.	81
Quadro 16	– Procedimento A - Condições cromatográficas do protocolo Dapsona.	96
Quadro 17	– Rampa de aquecimento do protocolo Dapsona.	96
Quadro 18	– Parâmetros operacionais para o Headspace para o protocolo da Dapsona.	97
Quadro 19	– Concentrações dos solventes residuais das soluções amostras enriquecidas do protocolo da dapsona.	104
Quadro 20	– Valores da Recuperação dos solventes residuais das soluções amostras enriquecidas.	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Resultados da média, DP e DPR das seis soluções adequabilidade do sistema.....	103
Tabela 2 –	Resultados da média, DP e DPR das soluções padrão.	104

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CG	Cromatografia Gasosa
DMF	Drug Master File
EDP	Exposição Diária Permitida
FID	Flame ionization detector
ICH	Conselho Internacional de Harmonização de Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
LAFEPE	Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco
TDC	Thermal Conductivity Detection
ECD	Electron Capture Detector
DEM	Detector de Espectrometria de Massas
FDA	Food and Drug Administration
USP	United States Pharmacopeia
EMA	Diretriz da Agência Europeia de Medicamentos
PGR	Plano de gerenciamento de risco
RPBR	Relatório de periódico de avaliação de benefício-risco
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
DMSO	Dimetilsulfóxido
SR	Solvente Residual
AD	Adequabilidade do sistema
DP	Desvio Padrão
DPR	Desvio Padrão Relativo
ET	Etanol
DI	Diclorometano
AE	Acetato de Etila

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	REFERENCIAL TEÓRICO	20
3.1	TOXICIDADE DE MEDICAMENTOS	20
3.2	ÓRGÃOS REGULAMENTADORES.....	21
3.2.1	ICH	21
3.2.2	Impurezas	22
3.2.2.1	Impurezas Inorgânicas	23
3.2.2.2	Impurezas Orgânicas	24
3.2.2.3	Solventes Residuais.....	25
3.3	DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO	31
3.4	CROMATOGRAFIA GASOSA	33
3.4.1	Gás de arraste	35
3.4.2	Injetor/ Amostrador	36
3.4.3	Coluna/Forno	37
3.4.4	Detectores	39
3.4.5	Cromatografia gasosa com <i>headspace</i> (HSGC)	41
3.4.6	Interpretação dos cromatogramas	42
3.4.6.1	Adequabilidade do sistema	43
3.4.6.2	Índice de retenção.....	43
3.4.6.3	Tempo de retenção	44
3.4.6.4	Números de pratos teóricos	45
3.4.6.5	Resolução de picos.....	45
3.4.6.6	Fator de Cauda	45
3.4.6.7	Relação Pico/Vale	46
3.4.6.8	Relação Sinal/ Ruído.....	47
3.4.6.9	Desvio Padrão Relativo /Coeficiente de Variação	47
3.4.6.10	Cálculo do desvio padrão relativo	48
3.5	VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA.....	48

3.6	ANÁLISE DE SOLVENTES RESIDUAIS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA.....	49
4	ARTIGO 1: ELABORAÇÃO DE GUIA PARA O DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA A DETERMINAÇÃO DE SOLVENTES RESIDUAIS POR CROMATOGRAFIA GASOSA EM IFA'S E PRODUTOS FARMACÊUTICOS	55
4.1	INTRODUÇÃO	55
4.2	METODOLOGIA	56
4.3	RESULTADOS.....	57
4.3.1	Guia Para desenvolvimento de métodos analíticos para a identificação e quantificação de impurezas voláteis e/ou solventes residuais em produtos farmacêuticos.....	57
4.3.1.1	Determinação da especificação e solventes a serem controlados na metodologia.....	57
4.3.1.2	Cálculo para a determinação da concentração de trabalho	58
4.3.1.3	Método de identificação, controle e quantificação de solventes residuais	59
4.3.1.4	Reagentes e materiais para análise	62
4.3.1.5	Solução padrão, Solução adequabilidade, Solução amostra, Solução Branco e Solução Amostra Contaminada	62
4.3.1.6	Verificação e ajuste do gás de arraste	64
4.3.1.7	Acomodação do equipamento e definição dos parâmetros cromatográficos.....	65
4.3.1.8	Condições Cromatográficas do <i>headspace</i>	65
4.3.1.9	Condições cromatográficas e procedimentos	66
4.3.1.10	Materiais solúveis em água	67
4.3.1.10.1	<i>Procedimento A: Serve para identificar solventes desconhecidos, presentes ou não na amostra.....</i>	<i>67</i>
4.3.1.10.2	<i>Procedimento B: Serve para conferir os solventes presentes na amostra.</i>	<i>73</i>
4.3.1.10.3	<i>Procedimento C: Serve para quantificar os solventes presentes na amostra.</i>	<i>75</i>
4.3.1.11	Materiais insolúveis em água	78
4.3.1.11.1	<i>Procedimento A.....</i>	<i>78</i>

4.3.1.11.2	<i>Procedimento B</i>	83
4.3.1.11.3	<i>Procedimento C</i>	84
4.3.1.12	Análise de Solventes Residuais da classe 3	86
4.3.1.13	Teste de Limite dos Solventes Conhecidos - USP 467	87
4.3.1.14	Validação de método analítico baseada pelo documento RESIDUAL SOLVENTS—VERIFICATION OF COMPENDIAL PROCEDURES AND VALIDATION OF ALTERNATIVE PROCEDURES- 1467 USP para procedimentos compendiais A e B das classes de solventes do tipo 1 e 2.	88
4.3.1.14.1	<i>Procedimento Limite: Procedimento A e Procedimento B</i>	88
4.3.1.14.2	<i>Procedimentos Quantitativos: Procedimento C</i>	89
5	ARTIGO 2: PROTOCOLO PARA A DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA A DETERMINAÇÃO DOS SOLVENTES RESIDUAIS ETANOL, DICLOROMETANO E ACETATO DE ETILA EM AMOSTRAS DO IFA DAPSONA: UM ESTUDO DE CASO	93
5.1	INTRODUÇÃO	93
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	94
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	94
5.3.1	Protocolo de desenvolvimento de método analítico para quantificação de solventes residuais em dapsona – Insumo Farmacêutico Ativo (IFA)	94
5.3.1.1	Objetivo	94
5.3.1.2	Materiais e equipamentos	95
5.3.1.2.1	<i>Equipamentos e instrumentos utilizados</i>	95
5.3.1.2.2	<i>Substância Química de Referência Caracterizada e Reagente</i>	95
5.3.1.2.3	<i>Condições Cromatográficas</i>	96
5.3.1.2.4	<i>Condições Headspace</i>	97
5.3.1.3	Procedimentos	97
5.3.1.3.1	<i>Preparo de soluções</i>	97
5.3.1.3.2	<i>Ensaio</i>	98
5.3.1.3.3	<i>Avaliações</i>	99
5.3.2	Resultados e discussão	100
6	CONCLUSÃO	106
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	107

REFERÊNCIAS	108
ANEXO A - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO BRANCO	117
ANEXO B - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO ADEQUABILIDADE 1	118
ANEXO C - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO ADEQUABILIDADE 2	119
ANEXO D - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO ADEQUABILIDADE 3	120
ANEXO E - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO ADEQUABILIDADE 4	121
ANEXO F - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO ADEQUABILIDADE 5	122
ANEXO G - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO ADEQUABILIDADE 6	123
ANEXO H - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO 1	124
ANEXO J - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO 2.....	125
ANEXO K - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO 3	126
ANEXO L - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO AMOSTRA 1	127
ANEXO M - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO AMOSTRA 2	128
ANEXO N - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO AMOSTRA 3.....	129
ANEXO O - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO AMOSTRA ENRIQUECIDA 1	130
ANEXO P - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO AMOSTRA ENRIQUECIDA 2	131
ANEXO Q - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO AMOSTRA ENRIQUECIDA 3	132

1 INTRODUÇÃO

O medicamento é considerado um produto farmacêutico devido as suas características profiláticas, curativas e paliativas com a finalidade de contribuir na promoção da saúde pública. A sua formulação é composta de substâncias diferentes como fármaco, matérias primas e excipientes, que juntos formam uma substância única com fins terapêuticos. (Lei nº 5.991, de 17 de dezembro de 1973)

Durante a fabricação dessas substâncias, podem surgir inúmeros tipos de impurezas que são diferentes de quaisquer dos insumos farmacêuticos ativos e excipientes que se manifestam de diferentes rotas de síntese dos fabricantes, processo de fabricação e desvio da qualidade. Essas impurezas não oferecem nenhum benefício terapêutico ao paciente e são classificadas como orgânicas, inorgânicas e solventes residuais (Machado, 2011; ICH Q3D(R1),2019; ICH Q3 (R2),2006).

As impurezas orgânicas são substâncias proveniente da utilização dos solventes orgânicos durante a síntese dos medicamentos, produtos de degradação e desvio da qualidade. Elas podem ser voláteis, não voláteis, conhecidas ou desconhecidas que precisam ser inspecionadas para evitar efeitos adversos à saúde humana (Machado, 2011).

Os solventes orgânicos são os veículos mais utilizados na fabricação dos medicamentos devido a sua afinidade natural com outros compostos orgânicos. Essa característica é o que define a sua preferência na síntese de fármacos com o seu alto poder de solubilidade, na facilidade de promover a forma cristalina de substâncias, pureza, além de aumentar o rendimento da produção, sendo uma substância ouro na indústria farmacêutica no desenvolvimento das formulações (USP 467, 2023; Hajipour, 2024).

Em contrapartida, esses compostos são os responsáveis pelo surgimento de solventes residuais voláteis, que nem sempre são eliminados totalmente durante o processo de fabricação e não possuem nenhum efeito terapêutico. Esses resíduos devem ser reduzidos ou até mesmo eliminados das formulações para atender os requisitos da Boas Práticas de Fabricação (BPF), e assim evitar os efeitos indesejáveis e riscos à saúde (ICH Q3C(R8), 2022; Farmacopeia Brasileira 6ª ed., 2024; USP 467, 2023; SUN, Rong et al., 2021).

Os produtos farmacêuticos são alvos de fiscalização da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) devido ao seu propósito garantir a saúde da população, por intermédio do controle sanitário da produção, da comercialização de produtos e de serviços (Lei 9.782, de janeiro de 1999). As indústrias farmacêuticas são inspecionadas pela agência para certificar que todo ciclo de produção esteja seguindo as boas práticas de fabricação e garantir a comercialização de produtos com qualidade e segurança para população (RDC de nº 658 de 30 de março de 2022).

A ANVISA é o órgão responsável por fiscalizar as indústrias farmacêuticas no Brasil para comprovar que os medicamentos são produzidos com qualidade, segurança e eficazes. O setor de controle de qualidade é um dos alvos mais importantes da agência reguladora, pois ele é o responsável por controlar toda a etapa do processo produtivo e certificar que os medicamentos produzidos sejam liberados para comercialização ou distribuição com qualidade considerada satisfatória.

Isso leva a execução de desenvolvimento de testes analíticos para monitorar e comprovar que os produtos farmacêuticos atendem as especificações aceitáveis, servindo de base para a avaliação da sua qualidade (RDC de nº 658 de 30 de março de 2022.) Pensando nisso, os compêndios farmacêuticos oficiais, como por exemplo a Farmacopeia Brasileira e a United States Pharmacopeia (USP), estabelecem métodos analíticos e/ ou monografias que auxiliam na determinação e quantificação dos solventes residuais, além do estudo das exigências mínimas para a garantia da qualidade e segurança dos insumos farmacêuticos e produtos acabados numa Indústria farmacêutica (Farmacopeia Brasileira, 6ªed., 2024).

A escolha de um método analítico eficaz para realizar a identificação e quantificação de substâncias indesejadas é ideal para garantir padrões de qualidade dos medicamentos. A elaboração de um guia prático para análises de solventes residuais em produtos farmacêuticos é um documento bastante promissor para a indústria farmacêutica seguir no desenvolvendo métodos analíticos de acordo com as boas práticas de fabricação.

Várias são as técnicas empregadas para a determinação e quantificação de impurezas nos Insumos Farmacêuticos e produto acabado numa indústria farmacêutica, para tanto a técnica de Cromatografia Gasosa é a mais sugerida pelos compêndios farmacêuticos nacionais e internacionais para as impurezas orgânicas voláteis e solventes residuais, devido à eficácia e sensibilidade da técnica (Kay Jacob

et al., 2021; Farmacopeia Brasileira 6ª ed., 2024; USP 467, 2023; Fiorentin, 2021; Hajipour, 2024).

As especificações de solventes residuais aceitáveis em produtos farmacêuticos mundialmente reconhecidas são encontradas nas diretrizes do Conselho Internacional de Harmonização (ICH), que é o principal fórum internacional de Harmonização e Requisitos Técnicos para Registro de Medicamentos para Uso Humano. Esse guia recomenda o uso de solventes com a toxicidade reduzida, além das quantidades aceitáveis de solventes residuais em produtos farmacêuticos para a segurança dos pacientes (ICH Q3C(R8),2022).

Contudo, o aumento da intoxicação por medicamentos no Brasil desperta grande preocupação dos órgãos reguladores quanto aos cuidados à vida dos pacientes, sendo considerado um problema de saúde pública no país. Diante do fato, a elaboração de um guia farmacêutico, baseado nas diretrizes dos órgãos fiscalizadores, para a determinação de solventes residuais em produtos farmacêuticos, é fundamental para promover medicamentos seguros quanto aos níveis de toxicidade, e assim proporcionar mais proteção à saúde pública no país.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Elaborar um guia com diretrizes para o desenvolvimento de método analítico que contribua na identificação e quantificação das impurezas orgânicas voláteis e/ou solventes residuais em IFA e produtos farmacêuticos terminados e promover um estudo de caso através do protocolo do IFA Dapsona.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar um levantamento bibliográfico acerca das metodologias analíticas disponíveis utilizadas para determinação de solventes residuais em produtos farmacêuticos
- Elaborar um documento (guia) da garantia da qualidade com diretrizes capazes de determinar e quantificar as impurezas orgânicas voláteis e/ou solventes residuais das IFA's e dos produtos acabados produzidos no laboratório.
- Desenvolver um protocolo guiado de um método analítico, utilizando a técnica de cromatografia gasosa, para determinar e quantificar as impurezas orgânicas voláteis do IFA dapsona, como estudo de caso.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 TOXICIDADE DE MEDICAMENTOS

Diversas são as formas de intoxicação por medicamentos que causam danos aos usuários, inclusive até a morte. A automedicação intencional ou acidental, o uso abusivo, erros de dosagens, terapia inadequada, além facilidade de aquisição de medicamentos no país são hábitos bastantes comuns entre os brasileiros sendo mais um caso de problemas de saúde pública no Brasil (DUARTE *et al.*, 2021).

De acordo com a ANVISA, também é possível ocorrer a intoxicação medicamentosa através de eventos adversos por conta dos desvios da qualidade, surgimento de produtos de degradação, impurezas e solventes residuais. Isso é proveniente do processo produtivo de fabricação, que torna cada vez mais exigentes o monitoramento dessas substâncias pelas agências regulatórias a fim reduzir os riscos causados por essas substâncias (ANVISA, 2019; de Andrade *et.al.*,2024)

Os medicamentos irregulares podem expor aos pacientes danos e ameaça a saúde, e o desvio da qualidade do processo de fabricação é um dos fatores que contribui na irregularidade desses produtos. Segundo a ANVISA, os produtos com desvio de qualidade apresentam alterações na sua formulação, além das concentrações inadequadas de algumas substâncias formadas durante a síntese (ANVISA, 2019).

De acordo com a RDC Nº 753, de 28 de setembro de 2022, para a concessão de registro de um medicamento é necessário que o fabricante comprove a garantia da qualidade, a segurança e a sua eficácia. Para que isso ocorra, é frequente a procura de estratégias para identificar e monitorar as impurezas com o objetivo de evitar penalidades severas, como o cancelamento do registro e a apreensão do produto (RDC Nº 753, de 28 de setembro de 2022).

Dessa forma, as indústrias farmacêuticas procuram colocar em prática o plano de gerenciamento de riscos (PGR) e relatório periódico de avaliação de benefício-risco (RPBR) das boas práticas de fabricação atuando desde do controle de armazenamento de matéria-prima e excipientes até todo processo fabril, com instalações adequadas, monitoramento de todas as etapas até a comercialização do produto, a fim de produzir medicamentos que cumpram com os termos de termos de

segurança eficácia e qualidade (FERRO,2010; ICH Q9,2005; RDC Nº 406, DE 22 DE JULHO DE 2020).

3.2 ÓRGÃOS REGULAMENTADORES

Existem manuais de orientação farmacêutica no mundo que promovem avaliação das impurezas em produtos farmacêuticos, insumos farmacêuticos ativos (IFAs), matérias-primas e intermediários. Porém, os mais utilizados são a Farmacopeia dos Estados Unidos (USP), a Farmacopeia Brasileira, a Farmacopeia Europeia (UE), Food and Drug Administration (FDA), a Diretriz da Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e a Diretriz do Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos para Uso Humano (ICH) (Santos, 2013) (ANVISA, 2022).

No cenário nacional, a ANVISA possui a farmacopeia brasileira como manual importante e completo quanto às exigências mínimas de qualidade, autenticidade, segurança e pureza dos insumos farmacêuticos e medicamentos. Suas diretrizes convergem com o desenvolvimento científico e tecnológico e as necessidades do Sistema Único de Saúde do país (Farmacopeia Brasileira, 6ºed).

A elaboração do capítulo da determinação de solventes residuais das farmacopeias brasileira e americana é baseada nas diretrizes ICH de acordo com a classificação desses compostos quanto ao risco à saúde humana. O capítulo possui um método analítico genérico que é capaz de determinar essas impurezas por cromatografia gasosa de materiais solúveis e insolúveis em água (Farmacopeia Brasileira 6ºed).

3.2.1 ICH

International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH), que em português significa Conselho Internacional de Harmonização de Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos de Uso Humano é um fórum mundial que reúne agências reguladoras e associações de indústrias farmacêuticas de vários países para uniformizar critérios de aprovação dos medicamentos (ANVISA, 2018).

No Brasil, as indústrias farmacêuticas consultam a Farmacopeia Brasileira, compêndios oficiais farmacopeias de outros países e às diretrizes do ICH para estabelecer a base para iniciar um desenvolvimento de métodos analíticos capaz de determinar as impurezas dos medicamentos. O monitoramento dessas substâncias é crucial para garantir as exigências mínimas de qualidade, autenticidade e pureza de insumos farmacêuticos, de medicamentos e de outros produtos sujeitos à vigilância sanitária (ICH Q3A(R2), 2006).

A diretriz ICH Q3A(R2) estabelece orientações para o registro de novos medicamentos e a qualificação das impurezas em novas substâncias medicamentosas que são produzidas durante a sua rota de síntese e ainda não possuem registro. Além dessa, outras são importantes para as indústrias como a ICH Q3D(R1), que estabelece avaliações e controle de impurezas elementares em medicamentos, e a ICH Q3A(R8) que estabelece recomendações da quantidade aceitável de impurezas, do tipo solventes residuais, durante a produção de medicamentos. Juntas são documentos importantes na construção de métodos analíticos essenciais para o setor de controle de qualidade ((ICH Q3A(R2), 2006;(ICH Q3D(R1),2019); (ICH Q3C(R8),2020)) .

De acordo com a diretriz ICH Q3A(R8), os solventes orgânicos utilizados na fabricação de produtos farmacêuticos são impurezas orgânicas voláteis sem nenhum efeito terapêutico, porém bastante importante na fabricação desses produtos. Para atender as boas práticas de fabricação dos medicamentos, os solventes precisam ser monitorados por procedimentos harmonizados que determinem níveis aceitáveis e confiáveis de solventes residuais de acordo com ICH Q2(R1) sobre validação de procedimentos analíticos (ICH Q2(R1), 2005).

3.2.2 Impurezas

As impurezas farmacêuticas não possuem nenhum benefício terapêutico e causam riscos quando as suas concentrações estão em níveis acima do limite permitido. O conhecimento de sua origem, composição, classificação, metodologias que as identifique e monitore são primordiais para preservação de toda a sua qualidade durante o ciclo de vida do produto (Machado, 2011).

De acordo com a diretriz do ICH Q2(R1), garantir a qualidade dos produtos farmacêuticos é desenvolver uma investigação detalhada do produto através de

métodos analíticos validados que demonstrem a sua capacidade de selecionar inequivocamente as impurezas presenças na amostra de outros componentes (ICH Q2(R1), 2005).

O método seletivo para impurezas deve ocorrer adicionando concentrações conhecidas dos solventes na amostra, sem que os mesmos interferem nos resultados, ou através de comparações de resultados dos testes de amostras contendo impurezas ou produtos de degradação com um segundo procedimento bem caracterizado (Machado, 2020; RDC de nº 166, de 24 de julho de 2017).

3.2.2.1 Impurezas Inorgânicas

As impurezas inorgânicas são substâncias resultantes de um processo de fabricação na adição de reagentes, ligantes e catalisadores, metais pesados e/ou residuais, sais inorgânicos, além de outros materiais (ICH Q3A(R2), 2006).

A presença de metais pesados como chumbo, cádmio, mercúrio e arsênico tem sido observada em produtos farmacêuticos de origem natural cuja a principal suspeita é de contaminação à deposição desses metais no solo, contaminação da água, envenenamento por fertilizantes e pesticidas (Aleluia *et al.*,2023). Em contrapartida, esses medicamentos são bastantes utilizados devido a promessas de provocar menos danos e intoxicação aos organismos do que os sintéticos. (Maziero,2023; Colangelo,2023)

Esses por sua vez, são contaminados por metais pesados por meio de deposição de catalisadores, contaminação de água, impurezas de vidro, matérias-primas e excipientes contaminados, bem como processos de fabricação descontrolados. A exposição por metais pesados pode ocasionar sequelas adversas para a saúde associadas à bioacumulação de metais e metaloides (Aleluia *et al.*,2023).

As impurezas inorgânicas são detectadas e quantificadas através de métodos físico-químicos farmacopeicos, além dos critérios de aceitação e dos dados de segurança. As técnicas analíticas aplicadas para a avaliação dos elementos inorgânicos em medicamentos vão desde espectrofotométrica e absorção atômica até espectrometria de massa, que podem ser acopladas a outros instrumentos para melhorar a qualidade da análise. A mais utilizada numa rotina industrial é a espectroscopia devido à alta sensibilidade, limites de detecção e quantificação

satisfatórios ((ICH Q3A(R2), 2006); Aleluia *et al.*,2023; Maziero, 2023; Colangelo, 2023).

3.2.2.2 Impurezas Orgânicas

Também chamadas de substâncias relacionadas, são substâncias provenientes de uma rota de síntese de uma matéria prima e/ou excipiente, da estabilidade e fase de armazenamento do fármaco. Elas são classificadas como voláteis ou não voláteis, conhecidas ou desconhecidas, sendo provenientes reagentes de partida e/ou intermediários, produtos secundários e/ou degradação ((ICH Q3A(R2), 2006); MACHADO,2020).

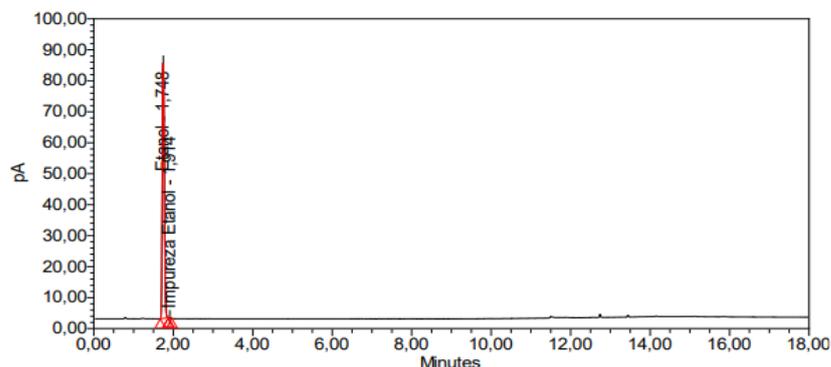
Os fabricantes devem informar as impurezas orgânicas reais e/ou as possíveis de surgir durante a síntese, purificação e armazenamento da nova substância medicamentosa. O laudo deve informar quais são as reações químicas envolvidas na síntese, impurezas associadas às matérias-primas, bem como possíveis produtos de degradação. Além dessas informações, também é preciso informar os estudos laboratoriais realizados para detectar impurezas na nova substância medicamentosa (ICH Q3A(R2),2006; Farmacopeia Brasileira 6^oed, 2024; USP 467, 2023).

De acordo com a RDC Nº 53, de 4 de Dezembro de 2015, os produtos de degradação são impurezas que surgem de alterações químicas provenientes de armazenamento inadequado de fármacos, logo para fins de controle de produtos de degradação dos produtos especificados no artigo 1^o:

Deverão ser adotados testes específicos, quando existentes. Diante da inexistência de testes específicos, deve ser garantido o controle daqueles produtos de degradação que apresentem relevante toxicidade ou que gerem ineficácia terapêutica.

Um exemplo de pico de etanol como produtos de degradação nos revestimentos dos comprimidos de Succinato de Metoprolol pode ser evidenciado na figura 1:

Figura 1 – Pico de impureza orgânica de etanol em Succinato de Metoprolol.



Fonte: Vissotto, 2023

3.2.2.3 Solventes Residuais

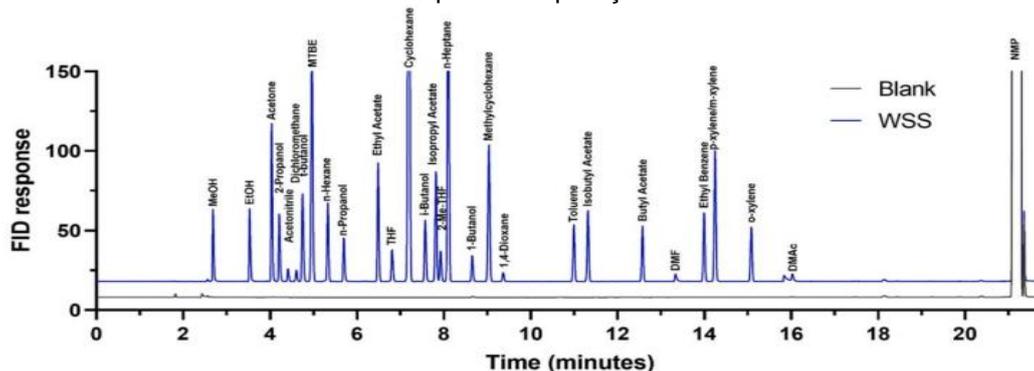
De acordo com os compêndios farmacêuticos, os solventes residuais encontrados nos produtos farmacêuticos são substâncias químicas orgânicas voláteis produzidas durante o uso de solventes orgânicos na fabricação de insumos farmacêuticos ativos ou excipientes, e/ou preparação de produtos acabados. Esses compostos, na maioria das vezes, são parcialmente eliminados do produto final (Farmacopeia 6ªed., 2024; USP 467, 2023; ICH Q3(R8), 2022).

Os solventes orgânicos muitas vezes são elementos críticos no processo produtivo de produtos farmacêuticos, uma vez que eles conseguem aumentar o rendimento ou determinar características como forma cristalina, pureza e solubilidade de um fármaco. Porém, os fabricantes precisam controlar e monitorar a dosagem dessas substâncias para evitar desvio da qualidade, e possivelmente uma intoxicação por medicamentos (Zou *et al*, 2023; USP 467, 2023; Hajipour, 2024).

A farmacopeia Brasileira e USP estabelecem as quantidades aceitáveis de solventes residuais em produtos farmacêuticos para a segurança dos pacientes baseados nas diretrizes do ICH. Ao mesmo tempo, traz direcionamentos importantes para o desenvolvimento de métodos analíticos, que são capazes de identificar e qualificar essas substâncias. Entretanto, a execução do método precisa ser adequada às características e estruturas químicas do fármaco, devido ao surgimento de diferentes solventes no mesmo IFA e/ou produto acabado de acordo com as rotas de síntese de cada fabricante. Nesse contexto, o método analítico precisa ser validado para demonstrar conformidade com os limites definidos (Farmacopeia Brasileira 6ªed., 2024; USP 467, 2023; ICH Q3A(R8), 2022).

Em exemplo dos Picos dos padrões de trabalhos e branco utilizando o método genérico HSGC-FID desenvolvido para a separação de 27 solventes residuais podem ser vistos na figura 2:

Figura 2 – Picos dos padrões de trabalhos e branco utilizando o método genérico HSGC-FID desenvolvido para a separação de 27 solventes residuais.



Fonte: Zou et al, 2023.

Os solventes residuais são classificados de acordo com a Farmacêutica Brasileira, USP e ICH em classes do tipo 1, 2 e 3. Essa classificação vai de acordo com a avaliação de risco que apresentam à saúde humana. Os compêndios farmacêuticos recomendam a utilização de solventes menos tóxicos para a saúde humana e os seus limites de aceitação (Farmacopeia Brasileira 6^oed., 2024; USP 467, 2023; ICH Q3A(R8), 2022; Zou *et al*, 2023; Fiorentin, 2021, Hajipour, 2024). Eles são aceitáveis numa ingestão de dose máxima admissível em produtos farmacêuticos que é expressa por exposição diária permitida (EDP) (Farmacopeia Brasileira, 6^oed., 2024; USP 467, 2023; ICH Q3A(R8), 2022).

Em exemplo das classes de solventes residuais orgânicos e sua avaliação de risco podem ser evidências no quadro a seguir:

Quadro 1 – Classe de solventes residuais orgânicos e sua avaliação de risco.

Classe de solvente residual	Avaliação
Classe 1	<p>Solventes que devem ser evitados:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Substâncias conhecidas como carcinogênicas para os seres humanos; • Substâncias seriamente suspeitas de serem carcinogênicas para os seres humanos; • Substâncias que representam riscos ambientais;
Classe 2	<p>Solventes que devem ser limitados:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Substâncias carcinogênicas não genotóxicas em animais, ou possíveis agentes causadores de outras toxicidades irreversíveis, tais como neurotoxicidade ou teratogenicidade. • Solventes suspeitos de causar outros efeitos tóxicos significativos, mas reversíveis.
Classe 3	<p>Solventes com baixo potencial tóxico:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Solventes de baixo potencial tóxico para os seres humanos; não é necessário um limite de exposição com base no risco para a saúde. Estes solventes têm um EDP de 50 mg ou mais por dia.

Fonte: Farmacopeia Brasileira 6^oed.

Os solventes residuais da classe 1 são os que precisam ser evitados na fabricação de IFA, excipientes ou produtos acabados, devido à alta toxicidade e aos efeitos ambientais nocivos desses compostos. Entretanto, essa classe de solventes quando utilizada na fabricação do fármaco devido a sua inevitabilidade no processo produtivo, precisa ser fortemente justificado como vantagem terapêutica numa avaliação risco-benefício (Farmacopeia brasileira 6^oed., 2024; USP 467, 2023; ICH Q3A(R8), 2022).

O quadro 2 é um exemplo dos solventes residuais de classe 1, limites de concentração em ppm e grau de risco que pode ser evidenciado a seguir:

Quadro 2 – Solventes residuais de classe 1, limites de concentração em ppm e grau de risco.

Solventes	Limite de concentração (ppm)	Motivo
Benzeno	2	Carcinogênico
Tetracloroeto de Carbono	4	Tóxico e apresenta risco ao meio ambiente
1,2 Dicloroetano	5	Tóxico
1,1 Dicloroetano	8	Tóxico
1,1,1- Tricloroetano	1500	Apresenta risco ao meio ambiente

Fonte: Farmacopeia Brasileira 6 ed.

Os solventes da classe 2 possuem um limite de exposição, quanto a sua toxicidade inerente à substância. A concentração desses solventes residuais no IFA e/ou produto acabado precisa ser calculado de acordo com a exposição diária permitida de aproximadamente 0,1mg e uma concentração com precisão de 10 ppm, assumindo um peso de produto de 10 g, administrado diariamente. Existem duas opções para calcular os limites da concentração de solventes residuais da classe 2 (Farmacopeia Brasileira 6ª ed.,2024).

A primeira opção (1), baseia-se nos limites de concentrações em ppm dos solventes residuais da classe 2. Os limites são calculados de acordo com a equação da concentração abaixo para insumos farmacêuticos ativos, excipientes da formulação e produtos acabados, quando as doses diárias não são conhecidas ou não excedem 10g/dia. Já a opção (2), é aplicada quando os produtos são administrados com doses superiores a 10g/dia ou quando pelo menos um dos componentes da formulação excede os limites da opção 1. A opção 2 é aplicada somando a quantidade de solventes residuais presentes nos componentes da amostra. Essa soma deve ser menor do que as indicadas pela exposição diária permitida (EPD) (ICH Q3C (R8), 2022).

Para calcular os limites da classe 2 utiliza-se a equação abaixo:

$$\text{Concentração (ppm)} = \frac{1000\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \times \text{EPD}}{\text{dose}}$$

Onde, a exposição diária é expressa em mg por dia e a dose é expressa em g por dia.

O cálculo permite avaliar a concentração em ppm dos solventes residuais presentes nos insumos farmacêuticos e no produto. Para tanto, é aceitável o monitoramento de solventes residuais nos produtos acabados através de análises cumulativas de solventes residuais nos IFA's e excipientes. Porém, isso só é permitido quando se sabe quais são possíveis solventes encontrados na formulação. O fabricante do medicamento, após avaliação da opção 1 e 2, precisa certificar que ocorreu a redução dos níveis das impurezas orgânicas voláteis para dar continuidade ao processo produtivo (Farmacopeia brasileira 6ª ed.,2024; USP 467, 2023 e ICH Q3A(R8), 2022)

Exemplo da classe 2 de solventes residuais, os limites de concentração em ppm e o grau de risco pode ser observados no quadro 3, a seguir:

Quadro 3 – Solventes residuais de classe 2, limites de concentração em ppm e grau de risco.

Solvente	EDP (mg/dia)	Limite de concentração (ppm)
Acetonitrila	4,1	410
Ciclohexano	38,8	3880
Clorobenzeno	3,6	360
Clorofórmio	0,6	60
Cloreto de metileno	6,0	600
Cumeno	0,7	70
1,2-Dicloroetano	18,7	1870
N, N-Dimetilacetamida	10,9	1090
N, N-Dimetilformamida	8,8	880
1,2-Dimetoxietano	1,0	100
1,4-Dioxano	3,8	380
Etilenoglicol	6,2	620
2-Etoxietanol	1,6	160
Formamida	2,2	220
Hexano	2,9	290
Metanol	30,0	3000
Metilbutilcetona	0,5	50
Metilciclohexano	11,8	1180
Metilisobutilcetona	45	4500
N-Metilpirrolidona	5,3	530
2-Metoxietanol	0,5	50
Nitrometano	0,5	50
Piridina	2,0	200
Sulfolano	1,6	160
Tetrahidrofurano	7,2	720
Tetralina	1,0	100
Tolueno	8,9	890
Tricloroetileno	0,8	80
Xileno	21,7	2170

Fonte: Farmacopeia Brasileira 6 ed.

As concentrações de solventes residuais da classe 3 podem também ser avaliados de acordo com a opção 1 e 2 dos compêndios oficiais farmacopeicos. São permitidas concentrações maiores, por serem considerados menos nocivos à saúde humana, quando comparados com os de classe 2 e 3. No entanto, a toxicidade inferior dos solventes da classe 3 são conhecidas de forma aguda, pois ainda não se tem indícios de longo prazo (Farmacopeia brasileira 6ªed., 2024, USP 467, 2023 e ICH Q3A(R8), 2022).

Os limites aceitos em produtos farmacêuticos são de 50 mg por dia ou menos, que correspondem a 5000 ppm ou 0,5%. A Farmacopeia Brasileira 6ª ed. e USP 467 permite avaliar os solventes residuais da classe 3 por métodos inespecíficos do tipo perda por dessecação. Entretanto, valores que ultrapassem 5000 ppm são aceitáveis, porém precisa ser justificado e necessário realizar os procedimentos de identificação, controle e quantificação de solventes residuais dos compêndios oficiais (Farmacopeia brasileira 6ª ed., 2024; USP 467, 2023; ICH Q3A(R8), 2022).

Exemplos de solventes residuais da classe 3 podem ser observados no quadro 4, a seguir:

Quadro 4 – Solventes residuais de classe 3.

Acetato de butila	Etanol
Acetato de etila	Éter terc-butilmetílico
Acetato de isobutila	Éter etílico
Acetato de isopropila	Formiato de etila
Acetato de metila	Heptano
Acetato de propila	3-Metil-1-butanol
Acetona	Metiletilcetona
Ácido acético	2-Metil-1-propanol
Ácido fórmico	Pentano
Anisol	1-Pentanol
1-Butanol	1-Propanol
2-Butanol	2-Propanol
Dimetilsulfóxido	Trietilamina

Fonte: Farmacopeia Brasileira 6ª ed.

A farmacopeia Brasileira informa a possibilidade de outros solventes orgânicos utilizados pelos fabricantes na produção de medicamentos produzirem solventes residuais que ainda não tem dados de estudos toxicológicos adequados. Segue a lista de outros solventes residuais sem dados toxicológicos no quadro 5.

Quadro 5 – Outros Solventes Residuais.

Ácido tricloroacético	Éter isopropílico
Ácido trifluoroacético	Éter de petróleo
1,1-Dietoxipropano	Isocetano
1,1-Dimetoximetano	Metil isopropil cetona
2,2-Dimetoxipropano	Metiltetrahydrofurano

Fonte: Farmacopeia Brasileira 6ª ed.

Os insumos farmacêuticos, excipientes e produtos acabados precisam ser avaliados quanto à presença dos solventes residuais que são utilizados nos processos

de purificação e produção do medicamento. De acordo com o ICH Q3A(R8), não há necessidade de determinar solventes residuais que não são utilizados na produção de medicamentos, só é preciso avaliar os solventes que são utilizados no processo ou na purificação. (ICH Q3A(R8), 2022).

Além disso, é fundamental que o fabricante do produto acabado tenha previamente informações referentes aos solventes utilizados durante o processo de síntese da matéria prima e/ou dos excipientes que serão utilizados para produzir o fármaco, e também dos possíveis resíduos existentes na formulação. Diante disso, é facultativo realizar a análise para monitoramento dos solventes residuais no produto acabado, caso os níveis nos insumos farmacêuticos estejam aceitáveis. Caso contrário, o produto final precisa ser analisado para verificar a redução dos níveis dos solventes residuais correspondentes até a sua quantidade aceitável (Farmacopeia Brasileira 6^oed., 2024; USP 467, 2023 e ICH Q3A(R8), 2022).

Isso não se aplica no surgimento de novos resíduos durante a fabricação do produto acabado. Neste caso, o monitoramento dos solventes residuais do produto acabado é obrigatório (Farmacopeia Brasileira 6^oed., 2024).

De acordo com os compêndios farmacêuticos, as análises de identificação, controle e quantificação de impurezas orgânicas, em produtos farmacêuticos, são realizadas pela técnica da cromatografia, em especial a cromatografia gasosa. Essa técnica precisa de método analítico baseado nas características do fármaco e validado para a obtenção de resultados confiáveis e precisos (Farmacopeia Brasileira 6^oed., 2024; USP 467, 2023 e ICH Q3A(R8), 2022).

3.3 DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO

As indústrias farmacêuticas utilizam o setor de controle de qualidade para executar as análises que asseguram a eficácia, qualidade, segurança e credibilidade dos medicamentos. Para o setor, o método analítico é um meio de verificar se os produtos estão de acordo com as especificações farmacopeicas, atendendo os padrões de qualidade exigidos pelos órgãos reguladores (RDC de nº 658 de 30 de março de 2022; Colangelo, 2023; Machado, 2020).

Na indústria farmacêutica, há casos que é necessário desenvolver métodos analíticos de acordo com a realidade da empresa concomitantemente com os já validados pelos compêndios farmacêuticos para a identificação de princípios ativos e

impurezas. Nesses casos, ela precisa validá-lo para confirmar a sua eficácia entre os conceitos de boas práticas de fabricação de medicamentos (Lencastre, 2023).

O método analítico eficaz interfere no processo de desenvolvimento, nas etapas de produção e na qualidade dos produtos, uma vez que é capaz de avaliar os resultados de identificação e quantificação dos analitos de acordo com as especificações reguladoras. Para tanto, o desenvolvimento do método analítico envolve diversas situações que vão desde a escolha certa dos materiais utilizados na análise até o tratamento dos resultados. É fundamental um raciocínio lógico para elaboração de metodologias confiáveis capazes de identificar e quantificar os compostos orgânicos em produtos farmacêuticos, tendo como documento de partida os compêndios oficiais e guias farmacopeicos (Machado, 2020).

Em cromatografia gasosa, o desenvolvimento de uma metodologia envolve avaliação e otimização de várias etapas que ocorre diante da escolha de diluente para materiais solúveis e insolúveis em água, natureza da amostra, procedimento adequado, preparo das soluções, coluna, detector, condições cromatográficas, injeção direta ou *headspace*, software sofisticado, entre outros parâmetros (Farmacopeia Brasileira, 6ªed., 2024; NASCIMENTO, *et al* 2018).

Como existem várias rotas de síntese de IFA's e/ou formas diferentes de produção de medicamento, o método pode ser adaptado por guias, manuais e normas concebidas por órgãos reguladores ou outras instituições competentes. Contudo, o mesmo precisa demonstrar a sua reprodutibilidade e confiabilidade por meio de validação parcial ou total baseado em regulamentações técnicas da ANVISA (RDC de Nº 166, de 24 de julho de 2017; Machado,2020).

Isso é bem esclarecido na RDC de Nº 166, de 24 de julho de 2017, pois quando um procedimento analítico é implementado, a comprovação de sua eficácia e reprodutibilidade na determinação das impurezas orgânicas voláteis é através de uma validação total ou parcial do método. O estudo analítico precisa que os parâmetros e os critérios de aceitação sejam definidos de acordo com as características do analito em estudo e da natureza do método (RDC de Nº 166 de 24 de julho de 2017).

Os compêndios farmacêuticos oficiais sugerem a técnica de cromatografia gasosa com especificações gerais para determinação de solventes residuais e/ ou impurezas orgânicas voláteis das classes 1, 2 e 3. Essa técnica precisa de informações dos solventes utilizados durante a síntese ou produção para ser executada com excelência. Caso contrário a investigação precisa de meios mais

sofisticados para descobrir que tipo de impureza existe no fármaco (Farmacopeia Brasileira 6^oed.2024; USP 467, 2023, ICH Q3A(R8) 2022).

3.4 CROMATOGRAFIA GASOSA

A cromatografia gasosa (CG) é uma técnica de separação de misturas voláteis e semivoláteis entre duas fases imiscíveis, na qual a fase móvel é um gás de arraste inerte que se move pela fase estacionária, que está por sua vez está contida dentro de uma coluna. Essa técnica é bastante utilizada em análises de identificação, quantificação de impurezas orgânicas voláteis e / ou solventes residuais, além de testes de purezas de fármacos, devido ao avanço de equipamentos sofisticados com alta tecnologia capaz de entregar resultados sensíveis e de excelente precisão ao método (Farmacopeia Brasileira 6^oed.,2024; Gaida *et al*,2023).

Basicamente, a técnica consiste num equipamento com cilindro de gás acoplado a um controlador, um injetor, uma coluna cromatográfica inserida num forno, um detector e um sistema de identificação de dados. A amostra vaporizada e o gás de arraste são injetados e encontram-se na coluna, onde todo sistema apresenta temperatura e pressão ideais e controladas. É importante obter um caminho inerte de amostra, estabilidade da zona térmica e a amostragem flexível do frasco controlado para contribuir com o desempenho confiável do sistema (Fiorentin,2018).

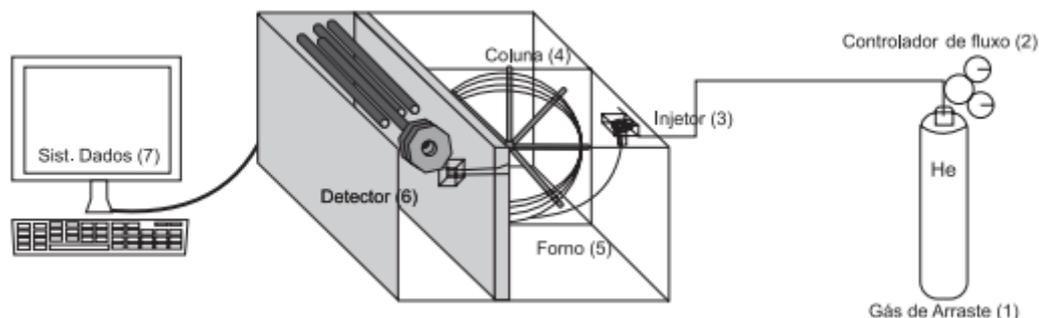
Nessa fase, os constituintes da mistura são separados pelo mecanismo de adsorção, partição, distribuição de massa ou exclusão por tamanho, e seguem para o detector liberar um sinal analítico de acordo com a quantidade de composto presente na amostra. O sistema de dados reconhece as informações e representa através de picos cromatográficos (Vissotto, 2023).

O cromatograma é uma sequência de picos que vão surgindo de acordo com o tempo de retenção de cada composto na coluna e sua concentração. Cada substância possui o tempo de eluição e uma resposta do instrumento, que é medida através da área do pico ou a altura do pico em função da quantidade presente (Farmacopeia Brasileira 6^oed., 2024).

A absorção e a partição são as principais formas de separação de componentes de uma mistura na técnica de cromatografia gasosa. A primeira, ocorre por um sistema de fluido- sólido, cuja fase estacionária contém sólidos dentro da coluna, enquanto que a segunda, o mecanismo ocorre entre fluidos, e a fase

estacionária contém um líquido viscoso dentro da coluna (Nascimento *et al.*, 2018). A figura 3 mostra as partes dos componentes da instrumentação de um cromatógrafo gasosa para compreensão geral do sistema.

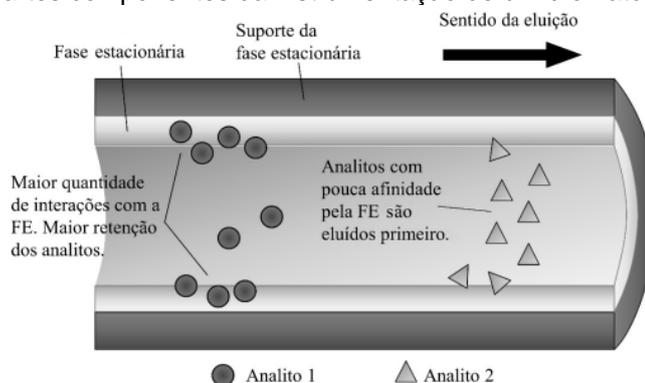
Figura 3 – Partes componentes da instrumentação de um cromatógrafo gasoso.



Fonte: Nascimento, 2018.

O gás de arraste elui os compostos da amostra durante sua passagem na coluna. Geralmente, os compostos que possuem mais afinidade com os componentes da coluna são menos voláteis, tem um tempo de retenção maior e ficam retidos por mais tempo na coluna. O mesmo não acontece com os compostos mais voláteis, pois tem pouca afinidade com os componentes da coluna e são os primeiros a saírem no cromatograma, devido ao seu tempo de retenção menor (Gaida *et al.*, 2023). A representação da separação cromatográfica, em coluna capilar, por meio de interações diferenciadas entre analito e fase estacionária pode ser observado na figura 4 na seguir:

Figura 4 – Partes componentes da instrumentação de um cromatógrafo gasoso.



Fonte: Nascimento *et al.*, 2018.

3.4.1 Gás de arraste

O gás de arraste é a fase móvel da cromatografia gasosa e a sua função é transportar o analito vaporizado por toda a coluna, chegando até o detector sem interferências possíveis. Por isso, ele precisa possuir alta pureza, ser inerte e a sua escolha depende do tipo de coluna e detector utilizado. Existem alguns gases que podem ser utilizados numa análise no CG, e os mais utilizados são os gases hélio, nitrogênio e hidrogênio (Farmacopeia Brasileira 6ªed.,2024; Gaida *et al.*,2023; Taylor *et al.*,2023). A tabela 6 representa os gases utilizados como fase móvel, as suas características, as colunas e os detectores mais utilizados de acordo com os artigos estudados.

Quadro 6 – Tabela dos gases utilizados na cromatografia gasosa.

Gás	Características	Coluna	Detector
Hélio	Caro, escasso e não sustentável.	Empacotadas/capilares	FID,TDC, ECD e DEM
Hidrogênio	Inflamável e explosivo	Capilares	FID e TDC.
Nitrogênio	Denso e sensibilidade inferior ao hélio.	Empacotadas/Capilares	FID,TDC,ECD e DEM

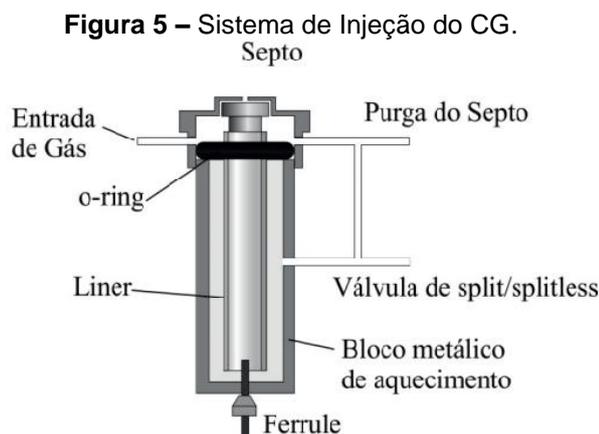
Fonte: Autoria Própria.

A eficiência do pico da impureza e o seu tempo de retenção também estão diretamente relacionados com a qualidade do gás. Por isso, o hélio é o gás de arraste mais indicado para a técnica de cromatografia gasosa devido à sua volatilidade, inércia química e interferência mínima com o sistema como todo. Outro gás bastante utilizado em análises GC é o hidrogênio devido ao seu bom desempenho com o detector FID e a facilidade de acesso ao gás (Taylor *et al.*, 2023).

No entanto, devido à escassez do hélio e a inflamabilidade do hidrogênio, atualmente está sendo muito aceito o gás nitrogênio nas análises de cromatografia gasosa utilizado o Flame ionization detector (FID), mesmo com a sensibilidade menor comparado ao gás hélio. (Taylor *et al.*, 2023).

3.4.2 Injetor/ Amostrador

O injetor é um local de zona térmica controlada onde ocorre a entrada do analito vaporizado ou não, e do gás de arraste no instrumento. O sistema amostrador/injetor pode ser manual ou automático, e possuem seguintes os itens: seringa de injeção, septo, inlet liner, além de peças consumíveis. A escolha ideal e a manutenção periódica dos parâmetros do injetor como a seringa/ agulha, temperatura, tipo de septo, anel de vedação e capacidade liner é importante para a estabilidade do sistema, além de obter uma boa reprodutibilidade e interferências nos resultados (Nascimento *et al.*,2018). O sistema de injeção do CG está representado na figura 5 a seguir:



Fonte: Nascimento *et al.*, 2018

Em equipamentos mais modernos, existem injetores que possuem uma válvula de split/splitless que são capazes de dividir ou não a amostra em duas frações para evitar o dano nas colunas capilares e obter resultados significativos. O modo split divide em fração menor, que entra na coluna, e a outra fração é posteriormente descartada. Já o modo de *splitless* injeta a amostra vaporizada completa, sendo utilizado em análises com volumes de amostragem menores (Farmacopeia Brasileira 6ª ed.,2024).

3.4.3 Coluna/Forno

As colunas cromatográficas são consideradas peças fundamentais para a determinação de substâncias voláteis em produtos farmacêuticos, uma vez que a escolha certa da fase estacionária determina a seletividade do processo de separação dos compostos de uma mistura. Essa seletividade depende muito das interações e forças da fase estacionária com os componentes da amostra, como as interações dipolares, ligações de hidrogênio e forças de van der Waals (Vissotto, 2023; Gaida *et al.*,2023).

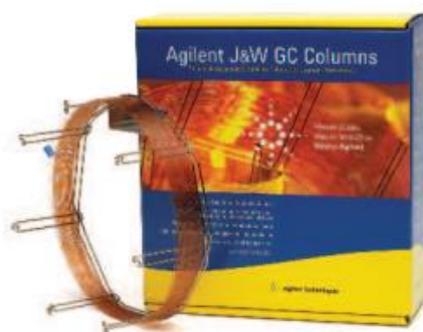
A otimização da separação dos picos e o desempenho cromatográfico em análise GC são mais perceptíveis quando é utilizado colunas com especificidades que correspondem às propriedades dos compostos da amostra. Para suprir essa necessidade, o mercado vem desenvolvendo diversas colunas preenchidas com fases estacionárias de diferentes polaridades com a finalidade de promover a identificação de solventes orgânicos com volatilidade variadas inclusive, semelhantes com estruturas químicas diferentes, sendo utilizados na fabricação de medicamentos (Gaida *et al.*,2023).

As fases estacionárias contidas nas colunas que podem ser classificadas em dois tipos: empacotadas e capilares. A primeira existe na versão de colunas preenchidas com partículas empacotadas e uniformes do material da fase estacionária, que proporciona um fluxo mais uniforme do eluato, favorecendo assim um aumento da resolução. Geralmente, são confeccionadas em materiais de vidro ou aço inox. A segunda, são atualmente as mais utilizadas em análises GC por ser uma evolução das colunas empacotadas na produção de equipamentos mais modernos (Nascimento *et al.*,2018).

As colunas capilares possuem revestimento de fase estacionária nas paredes do tubo, sendo a sílica fundida o material mais utilizado para o revestimento, podendo encontrar de vidro e aço inoxidável (Farmacopeia brasileira 6^oed). As novas colunas capilares encontradas no mercado possuem maiores comprimentos quando comparadas com as empacotadas, em média de 5 m a 60 m e com o diâmetro de 0,10 mm a 0,53 mm. A sofisticação dessas colunas torna elas ideais para a determinação de diversos solventes orgânicos voláteis apresentando alta eficiência na separação, maior sensibilidade, melhor resolução e menor tempo de análise com uma quantidade mínima de amostra (Vissotto, 2023; Nascimento *et al.*, 2018).

A farmacopeia Brasileira e a USP 467 sugerem colunas do tipo DB-624/G43 para os testes de identificação de solventes residuais e a do tipo WAX/G16 para a confirmação do solvente identificado, se está ou não acima dos limites regulamentados. O revestimento das primeiras colunas é composto de uma camada sílica fundida revestida com uma camada de fase de 6% cianopropil fenil - 94% dimetilpolissiloxano. Também existem a do tipo coluna de macrocapilar revestida com uma camada de fase 6% cianopropil fenil - 94% dimetilpolissiloxano (Farmacopeia Brasileira 6^oed 2024; USP 467, 2023). A figura 6 é exemplo de representação de colunas capilares utilizadas em Cromatografia Gasosa.

Figura 6 – Colunas para GC Agilent J&W.

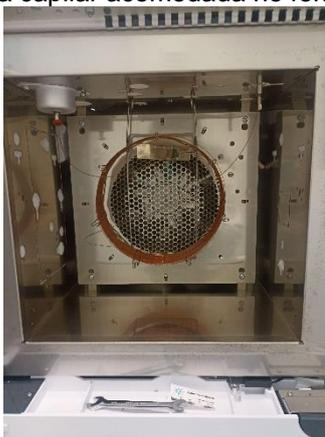


Fonte: Agilent.

O preenchimento das colunas de confirmação sugerida pela Farmacopeia Brasileira é de sílica fundida, revestida com uma camada de polietilenoglicol (massa molecular aproximada de 15.000). Outra sugestão da Farmacopeia Brasileira é a coluna macrocapilar revestida com uma camada de fase de polietilenoglicol (massa molecular aproximada de 15.000) (Farmacopeia Brasileira 6^oed., 2024).

As colunas utilizadas na cromatografia gasosa são acomodadas dentro de um forno com sistema de alimentação de temperatura e pressão. Os valores ideais desses parâmetros são definidos durante o desenvolvimento do método analítico para obter melhor sensibilidade ao sistema e separação dos compostos de acordo com a afinidade do analito e seus pontos de ebulição. Alguns métodos possuem rampas com temperaturas diferentes para obter um número maior de impurezas volatilizadas e tempos de retenção diferentes (Farmacopeia Brasileira 6^oed., 2024). A figura 7 é um exemplo de coluna capilar acomodada no forno cromatográfico do CG Agilent 8860.

Figura 7 – Coluna capilar acomodada no forno cromatográfico.



Fonte: Autoria própria.

3.4.4 Detectores

Os detectores são responsáveis por receber os compostos separados da coluna, e transformá-los em sinais analíticos eletrônicos com resultados interpretáveis. Na saída do detector, a central de tratamentos de dados identifica e calcula quantitativamente as concentrações das impurezas através dos dados da altura e da área dos picos. Essas concentrações dependem dos parâmetros da corrida e dos dados dos picos para obter cromatogramas completos (Farmacopeia Brasileira 6ª ed., 2024).

Existem detectores que são capazes de responder a diversas moléculas diferentes, que são chamados de universais, enquanto outros, são mais seletivos que só respondem a grupos funcionais específicos. Esse tipo de detectores possuem uma maior seletividade e intensidade de sinais analíticos comparados com os universais. (Nascimento *et al.*, 2018).

A escolha do detector depende do tipo de amostra a ser analisada e o objetivo da análise (Vissotto, 2023; Farmacopeia Brasileira, 6ª ed.). Além disso, a escolha dos gases para combustão é crucial na sensibilidade do detector, respeitando as condições operacionais e as recomendações do fabricante. Os mais utilizados em fase gasosa são o detector de ionização por chama (FID), detector de espectrometria de massas (DEM), detector de captura de elétrons (ECD) e o detector de condutividade térmica (TDC) (Aslani, 2022; Farmacopeia Brasileira 6ª ed., 2024).

Os primeiros detectores utilizados na cromatografia gasosa foram os de condutividade térmica, onde ainda são usados em análises de compostos H₂O, CO,

CO₂, H₂S, SO₂, NO e NO₂. A técnica consiste em medir a diferença de condutividade térmica do gás de arraste com o analito e de um gás de arraste puro. O sinal analítico é medido através da transferência de calor emitido pelas moléculas dos componentes da amostra gerado pela diferença de condutividade térmica. Esse detector possui uma sensibilidade menor comparado com o FID, além da queima muito frequente dos filamentos devido a ausência de passagem de fluxo de gás. (Nascimento *et al.*, 2018; ASPROMONTE, 2022)

Os detectores de espectrometria de massas são valiosos na investigação de compostos desconhecidos, pois é capaz de determinar a massa molecular dos compostos e composição química de amostras complexas, além de desconhecidas. O sinal analítico é emitido através da ionização das moléculas da amostra produzindo um espectro de massas característico do composto que são separados de acordo com sua massa/carga. É um detector muito utilizado em pesquisa de compostos, alta resolução, de fácil operação, excelentes resultados quantitativos e qualitativos, porém com um custo moderado e inadequado para a rotina de controle de qualidade de medicamentos (Nascimento *et al.*, 2018; Wang, Dandan *et al.* 2022).

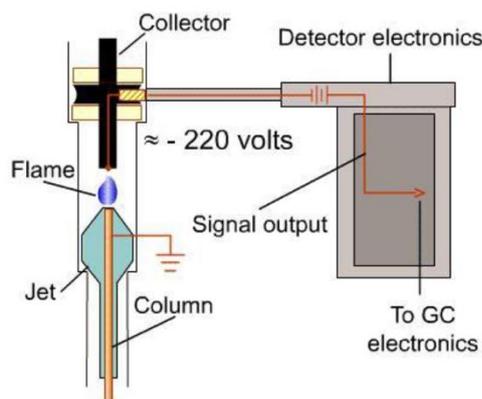
Os detectores de captura de elétrons são seletivos para compostos eletronegativos, tais como clorados, fluorados ou bromado. A técnica ocorre por meio de interações de espécies eletronegativas com elétrons presentes na amostra para formar íons carregados negativamente. O sinal analítico é formado quando ocorre a perda de elétrons, relacionado à quantidade do analito presente na amostra. São bastantes utilizados para determinar compostos halogenados e grupo nitro, porém pouca sensibilidade aos hidrocarbonetos (Farmacopeia brasileira 6^a ed., 2024)

De acordo com a farmacopeia brasileira, os detectores de ionização de chama são os mais utilizados em análises de impurezas orgânicas utilizado o CG, devido a alta sensibilidade à maioria dos compostos e também a uma ampla faixa linear, ou seja, numa determinação quantitativa, ele suporta ampla faixa de concentrações da amostra que são diretamente proporcionais as respostas analíticas (Farmacopeia brasileira 6^a ed., 2024; Wang, Dandan *et al.* 2022; Jozsai *et al.*, 2022).

A separação dos componentes de uma amostra ocorre através da queima do analito em uma chama de hidrogênio e oxigênio, produzindo íons e elétrons. É importante a utilização de gases com alta pureza para evitar sinais ruídos na amostra, pois mesmo sem o analito presente na chama, ocorrerá a formação de picos com a impurezas dos gases, e assim prejudicando o resultado da análise (Wang, Dandan *et*

al. 2022). A figura 8 é um exemplo do Detector de ionização de chama (FID) utilizado para queima do analito em cromatografia gasosa:

Figura 8 – Detector de ionização de chama (FID).



Fonte: Agilent

3.4.5 Cromatografia gasosa com *headspace* (HSGC)

A técnica de cromatografia gasosa utilizando o *headspace* é atualmente a mais utilizada nas análises de solventes residuais em amostras sólidas e líquidas em indústria farmacêutica. Isso se deve ao seu potencial de consumir quantidades menores de gás de arraste, redução do tempo de análise, além de aumentar o tempo de vida útil da coluna (Zou et al, 2023; HAJIPOUR, 2024). O *headspace* é uma câmara termostatizada adaptada ao cromatógrafo gasoso que possui um sistema de controle de temperatura, agitação e pressão para promover previamente à vaporização de substâncias voláteis da amostra (Farmacopeia Brasileira 6^oed., 2024).

A amostra fica contida na câmara por um tempo, sob temperatura, agitação e pressão pré-estabelecidos para que ocorra um equilíbrio entre as fases contidas nos vials. Esse equilíbrio acontece quando todas as supostas substâncias voláteis da amostra já estão na fase de gás em equilíbrio com a fase sólida e/ ou líquida. Uma alíquota da fase vaporizada é introduzida no injetor do cromatógrafo que entra em contato com o gás de arraste e segue para a coluna de separação (CHENG, Chang et al., 2010; Hajipour, 2024).

É uma técnica ultra-sofisticada que existem várias vantagens, dentre as mais desejadas é a sua facilidade de extrair vários solventes de uma amostra, além de ajudar na diluição de alguns materiais que são dificilmente solubilizados em temperaturas ambientes, como os produtos farmacêuticos. (Zou et al, 2023; CHENG,

Chang et al., 2010; Hajipour, 2024). A figura 9 é um exemplo de uma Câmara de *headspace* podendo ser evidenciado o avanço nas sofisticções dos equipamentos em Cromatografia Gasosa.

Figura 9 – Câmara de headspace do cromatógrafo gasoso Agilent 8860.



Fonte: Autoria própria.

3.4.6 Interpretação dos cromatogramas

As impurezas orgânicas voláteis de medicamentos possuem características estruturais semelhantes, homogeneidade heteroatômica e graus de saturação similares, que muitas vezes promovem confusão de identificação molecular numa análise de CG. Para tanto, é fundamental avaliar em conjunto os parâmetros cromatográficos para certificar da redução dos possíveis erros de interpretação das respostas analíticas de acordo com a identificação correta dos picos, além da adequação do sistema cromatográfico ao método (Farmacopeia Brasileira 6ed., 2024).

Os cromatógrafos gasosos possuem saídas dos detectores com sistema de dados que são interligados ao software do equipamento que calculam a área e a altura dos picos, e apresentam os cromatogramas completos contendo os parâmetros da corrida e a identidade dos picos (Wang,Dandan et al. 2022). Os dados da análise são trabalhados para confirmação de resultados fidedignos e precisos, sendo necessário avaliar os parâmetros seguintes:

3.4.6.1 Adequabilidade do sistema

A adequabilidade é um teste importantíssimo para verificação da reprodutibilidade e resolução das análises de CG que deve estar de acordo com os parâmetros estabelecidos para a identificação e quantificação dos compostos de uma amostra em investigação. A verificação da adequabilidade do sistema está relacionada à eficiência do equipamento, da separação da coluna e a resolução dos picos apresentando resultados satisfatórios (RDC nº 166 de 24 de julho de 2017).

De acordo com RDC nº 166 de 24 de julho de 2017, o método analítico destinado para a investigação de uma substância precisa demonstrar a sua adequabilidade do sistema de acordo com a resolução acima, logo a determinação de impurezas orgânicas voláteis e/ou solventes residuais em produtos farmacêuticos é um método compendial, e o art. 7 determina que:

Os métodos analíticos compendiais devem ter sua adequabilidade demonstrada ao uso pretendido, nas condições operacionais do laboratório, por meio da apresentação de um estudo de validação parcial.

No início da corrida cromatográfica, é injetado cinco ou seis vezes vials diferentes da solução padrão ou de soluções de adequabilidade especificadas em monografias individuais. A verificação da adequabilidade do método é através da avaliação do desvio padrão relativo da área de cada pico de solvente encontrado.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ªed, as condições de trabalho podem ser modificadas para atingir os parâmetros da adequabilidade, caso sejam necessários. Isso implica na aceitação de toda análise cromatográfica, se e somente se, a adequabilidade do sistema apresentar resultados válidos (Farmacopeia Brasileira 6ªed., 2024)

3.4.6.2 Índice de retenção

É um parâmetro utilizado para a identificação de compostos diferentes com picos de mesmo tempo de retenção ou parecidos podendo apresentar co-eluição (eluição simultânea). É uma ferramenta que minimiza os erros de identificação molecular dos componentes presentes na amostra, tendo como base a co-injeção de padrões autênticos e os índices de retenção dos possíveis compostos de uma amostra em estudo (Agilent, 2019).

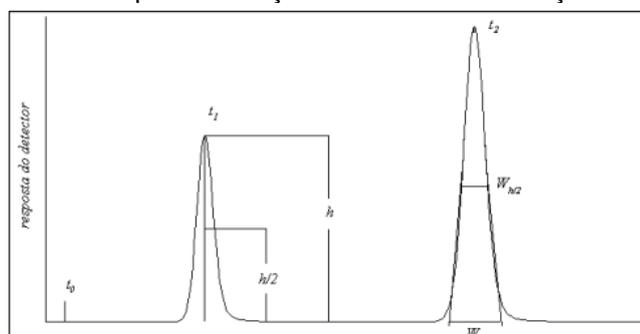
O cálculo do índice de retenção é baseado no tempo de retenção do componente da amostra com o tempo de retenção de dois padrões eluídos, antes e após o pico do composto de interesse (Bizzo *et al.*, 2023). Para uma melhor definição, pode-se determinar o índice de retenção e obter a confirmação através de análise com o detector de espectro de massas (Wang, Dandan *et al.*, 2022).

3.4.6.3 Tempo de retenção

É o tempo necessário para que o analito presente na amostra chegue ao detector, sendo característico de cada substância, mas não exclusivo. O tempo de retenção é indicativo de identidade de cada composto que é avaliado em comparação com o tempo de retenção de substância química de referência de cada analito. Porém, isso não é suficiente para a caracterização completa da amostra, pois existem substâncias com o mesmo tempo de retenção, sendo necessário avaliar outros parâmetros de identificação (Bizzo *et al.*, 2023, Farmacopeia Brasileira 6ª ed., 2024).

O tempo de retenção também pode ser influenciado por outros parâmetros ocupacionais como a afinidade da coluna cromatográfica, o tipo e fluxo do gás de arraste, o volume da amostra, as dimensões e temperatura da coluna, polaridade e espessura da fase estacionária, uso de solventes e reagentes utilizados na análise. Compostos com menos afinidades com a coluna possuem tempos de retenção mais curtos comparados com os de maior afinidade (Bizzo *et al.*, 2023). A figura 10 ilustra o tempo de retenção e resoluções de picos de analitos:

Figura 10 – Tempo de retenção de analitos e resoluções de picos.



Fonte: Farmacopeia Brasileira 6ª ed.

3.4.6.4 Números de pratos teóricos

De acordo com a farmacopeia brasileira, o número de pratos é indicativo de eficiência da coluna, que depende do tipo de amostra a ser analisada, fase móvel, temperatura e o tipo de coluna selecionada. Esse parâmetro corresponde a distância média que os componentes da amostra percorrem a coluna em uma distribuição ou partição da fase móvel na fase estacionária em equilíbrio (Farmacopeia Brasileira 6ªed., 2024)

O valor do número de pratos teóricos é informativo para a análise de solventes residuais em colunas de CG, porém a diminuição do valor é indicativa de baixa eficiência da coluna e/ou desgaste da mesma. Os fatores que mais danificam a coluna são temperaturas e pressões inadequadas, vazão da fase móvel, gás de arrastes impuros, características das amostras e forma de injeções (Agilent, 2019).

Outro fator importante a ser considerado é a relação do número de pratos teóricos com o comprimento da coluna e o tempo de retenção, sendo grandezas diretamente proporcionais (Agilent, 2019). Isso mostra mais uma vez a importância da escolha de colunas ideais para análise de acordo com as características das amostras e dos parâmetros do método desenvolvido.

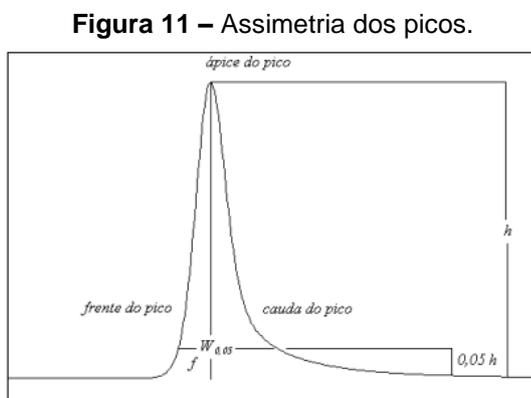
3.4.6.5 Resolução de picos

A resolução indica o grau de separação de dois picos adjacentes de amostra. Também é considerada outra medida indicativa de eficiência da coluna. O cálculo da resolução é baseado na altura e área dos picos dos componentes em eluição que são diretamente proporcionais. Quanto maior a resolução entre dois picos, maior será a separação e a identificação dos mesmos. Para a análise quantitativa, as substâncias devem estar totalmente separadas de qualquer substância interferente (Farmacopeia 6ªed., 2024).

3.4.6.6 Fator de Cauda

O fator de cauda é um parâmetro que indica simetria de picos, cujo valores iguais a 1 são característicos de picos com perfeitamente simétricos. Valores acima de 1 são considerados assimetria dos picos, ou seja, a integração e precisão se

tornam menos confiáveis (Farmacopeia 6^oed., 2024). A figura 11 é um exemplo de assimetria dos picos.

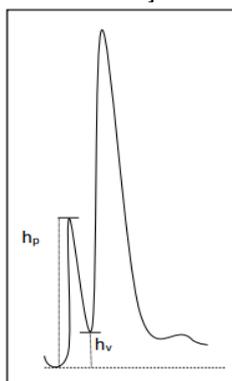


Fonte: Farmacopeia Brasileira 6^a ed.

3.4.6.7 Relação Pico/Vale

É uma grandeza que pode ser empregada como critério de avaliação da adequabilidade do sistema num ensaio de impurezas orgânicas voláteis por cromatografia gasosa. É uma relação de separação incompleta de duas substâncias que caracteriza um sistema em desequilíbrio (Farmacopeia Brasileira 6^oed., 2024). A relação de pico/ vale pode ser visualizada na figura 12 a seguir:

Figura 12 – Relação Pico/Vale.



Fonte: Farmacopeia Brasileira 6^a ed.

3.4.6.8 Relação Sinal/ Ruído

A relação sinal/ruído é um parâmetro aplicável em procedimentos que apresentem ruído de linha de base. É medir o quanto o pico do solvente de interesse se destaca dos demais da linha de base, ou seja, compara os sinais medidos de amostras com baixas concentrações conhecidas do solvente com os sinais da amostra branco, na qual o analito pode ser quantificado de forma confiável. Uma relação sinal-ruído típica é 3 ou 2:1 (ICH Q2(R1), 2005).

O capítulo de determinação de solventes residuais por CG da farmacopeia brasileira e americana requer a avaliação desse parâmetro por se tratar de uma análise de alta sensibilidade e de interferências no estudo de solventes residuais em CG, utilizado como parâmetro de comparação os solventes residuais de cada classe com riscos de toxicidade e ambientais significativos (Farmacopeia Brasileira ed., 2024; USP 467, 2023).

De acordo com a RDC 166 de 24 de julho de 2017, durante a validação de métodos analíticos instrumentais, o limite de detecção dos componentes de uma amostra pode ser realizado através da avaliação do sinal ruído da linha de base, considerando a particularidade do método analítico. A razão sinal-ruído para o limite de detecção deve ser maior ou igual a 2:1. Já no limite de quantificação, a relação sinal/ ruído é deve ser de no mínimo 10:1 (RDC 166 de 24 de julho de 2017).

3.4.6.9 Desvio Padrão Relativo /Coeficiente de Variação

Os dados experimentais estão sujeitos a erros e desvios que podem ser obtidos através de preparos de soluções, erro de método e alterações do sistema da técnica. Para a confiabilidade dos dados no desenvolvimento do método, os resultados analíticos são avaliados de acordo com os parâmetros estatísticos de desvio padrão relativo e intervalo de confiança para obter a redução do grau da incerteza das medidas (RDC nº 166 de 24 de julho de 2017).

3.4.6.10 Cálculo do desvio padrão relativo

De acordo com a RDC nº 166 de 24 de julho de 2017, a dispersão dos resultados é expressa pelos valores do desvio padrão relativo junto ao valor da média das concentrações, cuja fórmula é:

$$DPR = \frac{DP}{DCM} \times 100$$

Em que, DPR desvio padrão relativo, DP desvio padrão e CMD a concentração média determinada.

A mesma resolução estabelece que os critérios de aceitação dependem da avaliação do objetivo do método em estudo, variabilidade intrínseca do método, concentração de trabalho e concentração do analito na amostra (RDC nº 166 de 24 de julho de 2017).

3.5 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA

A metodologia analítica desenvolvida para solventes residuais pode ser validada tanto pelas diretrizes da farmacopeia americana por meios de recomendações do documento *Residual Solvents—Verification Of Compendial Procedures And Validation Of Alternative Procedures- 1467 USP* ou pelas diretrizes da RDC 166 de 24 de julho de 2017 -ANVISA. Vale lembrar que isso serve para validação de procedimentos compendiais modificados e alternativos, sendo levado em consideração a adequação do método escolhido de acordo com as suas recomendações, bem como modificações (RDC nº 166 de 24 de julho de 2017; USP 467,2023).

De acordo com o documento USP 1467, a validação de solventes residuais em CG é para classes do tipo 1 e 2, podendo ser realizado nas outras classes, com a execução de dois métodos: o teste limites e o quantitativo. Dependendo do procedimento desenvolvido, os parâmetros exigidos para a validação do método analítico são diferentes, sendo importante seguir as recomendações do documento (USP 467, 2023).

A validação de métodos analíticos qualitativos, utilizando procedimentos compendias, são exigidos parâmetros de especificidade, limite de detecção e estabilidade das soluções. Já para quantificar os solventes residuais, todos os parâmetros são necessários, exceto limite de detecção, linearidade, precisão intermediária e robustez. Quando a escolha for para a validação de métodos alternativos, os parâmetros de identificação são os mesmos da validação de métodos utilizando procedimentos compendias, porém para teste quantitativos, são exigidos todos os parâmetros, exceto o limite de detecção (USP 467, 2023).

A Farmacopeia Brasileira classifica os parâmetros para teste ensaio limite e quantitativo para os métodos compendiais. As exigências dos parâmetros para os dois testes de impurezas são as mesmas da validação utilizando a farmacopeia USP 467 (Farmacopeia Brasileira 6ª ed., 2024; USP 467, 2023).

Essa comparação pode ser observada na RDC 166 de 24 de julho de 2017, que determina os parâmetros e critérios de aceitação de acordo com as características do analito e da natureza do método. Para métodos analíticos compendiais, a validação pode ser apresentada por meio de um estudo parcial avaliando os parâmetros de precisão, exatidão e seletividade. Já em casos de métodos alternativos, a validação é total, levando em consideração os parâmetros estabelecidos pela resolução e as condições técnico – operacionais (RDC 166 de 24 de julho de 2017).

Em todas as análises a adequabilidade do sistema deve ser verificada para fins de confiabilidade do método. Em testes de impurezas, todos os parâmetros são exigidos na quantificação, com exceção o limite de detecção, que este por sua vez só é exigido no ensaio limite junto com a seletividade (RDC 166 de 24 de julho de 2017).

3.6 ANÁLISE DE SOLVENTES RESIDUAIS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA

Existem muitos artigos acadêmicos que abordam as análises de impurezas orgânicas do tipo voláteis por cromatografia gasosa. As pesquisas científicas são importantes para iniciar um desenvolvimento de um método analítico capaz de identificar e quantificar as substâncias tóxicas em medicamentos. As buscas facilitam conhecer as principais técnicas abordadas, o melhor funcionamento do equipamento como a escolha dos injetores, colunas, detectores, as condições cromatográficas, entre outras.

Segundo Bernardoni et al, o CG é o primeiro método de escolha, até mesmo para amostra de matriz complexas, porque são equipamentos de tecnologia de ponta, alta sensibilidade, robustez favorável, compatível com o baixo ponto de ebulição dos solventes orgânicos, diversidade na sofisticação de fase estacionária, entre outras qualidades (Bernardoni *et al.*, 2019).

Um avanço tecnológico da técnica de cromatografia gasosa é o *headspace* acoplado ao equipamento. É um espaço capaz de volatilizar os compostos da amostra através de temperaturas controladas num sistema fechado. Uma das vantagens é a extração de solventes voláteis em amostras de matrizes complexas líquidas com a injeção precisa e automática no equipamento, sendo uma tecnologia ideal para o manuseio de materiais desafiadores. Outro ponto, é a conservação da integridade da coluna, reduzindo o dano e com isso, obtendo resultados mais confiáveis como melhores resoluções e simetrias de picos (Zou *et al.*,2023).

Porém, nem toda vez o avanço da tecnologia é traz os melhores resultados. O método de determinação de nove solventes residuais de tosilato de sorafenibe, incluindo metanol, acetonitrila, acetato de etila, tetrahidrofurano, clorobenzeno, tolueno, acetona, diclorometano e N, N-dimetilformamida foi desenvolvido e validado através da técnica de cromatografia gasosa com injeção direta da amostra. Os solventes de alto ponto de ebulição da amostra, quando aplicados em *headspace*, promovem a perturbação inevitável de impurezas, alto nível de ruído e baixo quantitativo de precisão, sendo o método de injeção direta mais adequado que pode compensar essa deficiência (Sun *et al*, 2021).

As elaborações e adaptações de métodos analíticos são devido as constantes mudanças na rota de síntese dos produtos farmacêuticos provocados pelas frequências alterações dos solventes orgânicos utilizados na fabricação de alguns medicamentos. Essas alterações produzem matérias de matriz complexas com dificuldades na identificação dos compostos indesejáveis, sendo necessário investimento em tecnologia e pesquisas para tal finalidade (Hajipour *et al.*, 2024).

Um ponto bastante importante na definição do método é a escolha da fase móvel. Para a cromatografia gasosa, o hélio é o gás de arraste recomendado pela Farmacopeia Brasileira e a USP devido ao seu alto poder de pureza, sem alterar as características da amostra. Porém, existe uma grande preocupação com a sustentabilidade desse gás. Ele é um recurso não renovável com futuras dificuldades

de obtenção devido ao rápido esgotamento das reservas atuais e de alto custo para a empresa (TAYLOR *et al.*,2023)

Segundo Bernardoni *et al.*, o hidrogênio é uma alternativa de sustentabilidade nas análises de rotina do CG, com vantagem até na sua obtenção a partir da eletrólise da água em substituição das instalações de cilindros de gás. Para além disso, a sua velocidade linear é mais alta quando comparado com o hélio e o nitrogênio, devido a sua menor viscosidade e a alta difusividade, reduzindo assim o tempo de análise (Bernardoni *et al.*,2019).

Já para os autores C.W. Taylor and S.A. Bowden, o hidrogênio é um gás perigoso que pode colocar em risco a vida das pessoas do laboratório por ele possuir características inflamáveis e explosivas. Logo, o método desenvolvido no artigo utilizou o nitrogênio como fase móvel em análise de biomarcadores de lipídeos fósseis utilizando CG com o detector de espectrometria massas, mesmo o gás sendo menos sensível quando comparado com o hélio (Taylor *et al.*, 2023).

Para o controle de etanol, 2-propanol, clorofórmio e tetrahidrofurano (THF) em amostras de na matéria prima Indapamida foi realizada modificações e a validação da metodologia recomendada pela farmacopeia brasileira para a determinação de solventes residuais. A técnica utilizada foi a cromatografia gasosa com o detector FID acoplado ao headspace e o hélio como fase móvel, mesmo ainda sendo um gás com baixa sustentabilidade. O artigo optou por realizar modificações nas condições cromatográficas para obter resultados seletivos e robustos, além da redução do tempo de análise (Fiorentin, 2021).

O método para análise de solventes residuais em amostras de radiofármacos PET também foi observado modificações nas condições cromatográficas. A metodologia foi aplicada para quantificação de etanol, acetona e acetonitrila, tetrahidrofurano, dibromometano, 2-dimetilaminoetanol, -dimetilformamida e dimetilsulfóxido, além de atender a quantificação de resíduos que não se enquadram em nenhuma categoria dos órgãos reguladores, e que são precursores da síntese dos produtos. Os resultados atenderam aos requisitos do ICH, FDA e da Farmacopeia dos Estados Unidos (USP) para detecção e quantificação de solventes residuais (Jószai *et al.*, 2021).

Outro ponto observado no artigo, foi a importância do enquadramento da rampa de aquecimento na metodologia de acordo com as características dos solventes residuais contidos na amostra. Para afinidade dos solventes N,N -

dimetilformamida e o dimetilsulfóxido com a coluna foi preciso de altas temperaturas ao longo de toda a análise, o mesmo não acontece com a separação dos picos de etanol, acetona e acetonitrila que precisam de baixas temperaturas iniciais para que ocorra (Jószai *et al.*, 2021).

Quando o assunto é detector para análises de solventes residuais em medicamentos, FID é o mais recomendado pelo seu excelente desempenho na rotina dos laboratórios, alta sensibilidade e uma ampla faixa linear de respostas analíticas. No entanto, o FID responde exclusivamente a espécies orgânicas combustíveis e não produz qualquer sinal para gases comuns, como dióxido de carbono, amônia e, principalmente, água (Kay J *et al.*, 2021).

De acordo com Kay J *et al.*, 2021, o método desenvolvido com o detector de TCD acoplado ao *headspace* obteve sucesso em seus resultados nas análises simultânea da quantificação da água residual em produtos farmacêuticos e de 25 solventes residuais comuns e de impurezas de pequeno peso molecular. A redução do tempo de análise foi de 7,5 minutos, obtendo um melhor rendimento e redução de uso de reagentes (Kay J *et al.*, 2021).

Portanto, o método cromatográfico com o detector TCD pode ser uma alternativa para a determinação de compostos inorgânicos e também na quantificação de água residual, em substituição a técnica por titulação de Karl Fischer e análise de bancada, que são atualmente nas rotinas laboratoriais para o teor de água residual. (Aspromonte *et al.*, 2022).

Para a identificação de resíduos voláteis em cápsulas de gelatinas duras com óxido de etileno também teve a sua metodologia aprimorada. De acordo com D. Wang, A. Zhang, W. Guo *et al.*, a metodologia foi desenvolvida para o monitoramento rotineiramente dos resíduos voláteis nos invólucros das cápsulas de gelatinas pelos fabricantes e com isso otimizar o tempo de armazenamento após a esterilização do produto e avaliar a sua liberação para distribuição comercial (Wang Dandan *et al.*, 2022).

As cápsulas gelatinosas quando esterilizadas com óxido de etileno surgem na sua composição os resíduos voláteis o próprio óxido de etileno, 2-cloroetanol, acetaldeído e 1,4- dioxano que são totalmente neurotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos em concentrações acima do permitido. O método possui o acoplamento dos detectores FID e EM com a utilização do nitrogênio e hélio como gás de arraste respectivamente para identificar a completa dos resíduos. Porém, o

trabalho estabeleceu que o CG-FID como a metodologia mais eficaz na identificação dos solventes (Wang Dandan et al., 2022).

Nos casos de fármacos transdérmicos não é diferente. A complexidade do processo de fabricação provoca o surgimento de solventes residuais que influenciam fortemente na qualidade do produto final. De acordo com Mazumder et al. 2022, os solventes mais encontrados nas propriedades físicas dessas apresentações são o clorofórmio, metanol, acetona e heptano, podendo surgir outros de acordo com cada fabricante. A metodologia aplicada é baseada nos compêndios, porém a análise foi desenvolvida para o adesivo e não na adesão e liberação dos fármacos, sendo, portanto, necessário o aprimoramento do método de acordo com a matéria em análise (Mazumder et al. 2022).

Os suplementos a base de plantas naturais também são alvos dos monitoramentos das impurezas orgânicas durante a sua fabricação devido a extração dos ativos com solventes orgânicos. O consumo exagerado de fitoterápicos no Brasil é devido à crença na eficácia da segurança dos produtos naturais. Segundo Vojvodić et al, os solventes mais encontrados em produtos de origem natural são etanol, metanol, acetona, 2- propanol, 1- propanol e 1- butanol. A metodologia desenvolvida para a quantificação dessas impurezas foi também adaptada dos órgãos reguladores, e diferente dos demais artigos já mencionados com mesmos solventes (Vojvodić et al.,2024).

O quadro 7 contém os artigos citados com diferentes desenvolvimentos dos métodos analíticos para a determinação de impurezas orgânicas voláteis em medicamentos utilizando a técnica de cromatografia gasosa.

Quadro 7 – Artigos de metodologia analítica para identificação e quantificação de impurezas orgânicas voláteis em CG.

Autor/Ano	Produto analisado	Método Farmacopeico	CG/ headspace	Gás de arraste	Detector	Validado
Bernardoni <i>et al.</i> 2019	In pharmaceuticals	Modificado	Não	Hidrogênio	FID	Sim
Fiorentin, Anderson Luiz, 2021	indapamide	Modificado	Sim	Hélio	FID	Sim
Jószai <i>et al.</i> , 2021	PET radiopharmaceuticals	Modificado	Injeção Direta	Hélio	FID	Sim
Zou <i>et al.</i> 2023	In pharmaceutical materials	Modificado	Sim	Hélio	FID	Sim
Sun <i>et al.</i> 2021	In Sorafenib Tosylate	Modificado	Injeção Direta	Nitrogênio	FID	Sim
KAY, Jacob <i>et al.</i> , 2021	of water and in pharmaceuticals	Modificado	Sim	Hélio	TCD	Sim
WANG, Dandan <i>et al.</i> , 2022	sterilized hard gelatin capsule shells	Modificado	Sim	Hélio	FID/DEM	Sim
Aspromonte <i>et al.</i> , 2022	In solid pharmaceutical bulk products	Modificado	Sim	Não específica.	FID /TCD	Não
Mazumder <i>et al.</i> 2020	Of transdermal drug delivery systems	Modificado	Sim	Hélio	FID	Não
Vojvodić <i>et al.</i> 2023	Of herbal food supplements	Modificado	Sim	Hélio	DEM	Não
HAJIPOUR <i>et al.</i> , 2024	In pharmaceutical materials	Modificado	SIM	Nitrogênio	FID	Sim

Fonte: Próprio da autora

4 ARTIGO 1: ELABORAÇÃO DE GUIA PARA O DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA A DETERMINAÇÃO DE SOLVENTES RESIDUAIS POR CROMATOGRAFIA GASOSA EM IFA'S E PRODUTOS FARMACÊUTICOS

4.1 INTRODUÇÃO

Os solventes residuais são considerados impurezas orgânicas voláteis que são produzidas durante o uso de solventes nas etapas de um processo de síntese de um fármaco. Essas substâncias são importantes para a produção de medicamentos, porém não tem nenhum efeito terapêutico e podem colocar em riscos a saúde dos usuários quando as suas concentrações estão em desacordo com as diretrizes (Farmacopeia Brasileira 6ª ed., 2024; USP 467, 2023; ICH Q3A(R8), 2022).

Na Farmacopeia Brasileira 6ª ed., possui um capítulo para determinação de solventes residuais em insumos farmacêuticos ativos, excipientes e produtos farmacêuticos acabados. O método sugerido é baseado de acordo com as diretrizes para solventes residuais do ICH Q3C(R8) que é muito semelhante a Farmacopeia Americana 467 USP *Residual Solvents*.

O capítulo é dividido na classificação dos possíveis solventes resultantes de um processo de purificação e/ou síntese de acordo com os seus graus de riscos. Também ocorre classificações de procedimentos analíticos do tipo A, B e C, para identificar, confirmar e depois quantificar as substâncias residuais, além da subdivisão dos procedimentos de acordo com as características de solubilidade dos materiais em análise (USP 467, 2023).

Numa indústria farmacêutica, a análise de solventes residuais é importante para avaliar a qualidade dos medicamentos (HAJIPOUR et al., 2024). No setor de desenvolvimento e pesquisa, a busca através de estudos científicos é frequente para a execução de atualizações e/ou novas análises para o controle de qualidade desempenhar seu papel de certificar os produtos (Machado, 2020). Como documento orientador farmacêutico, a Farmacopeia Brasileira não possui monografias individuais para análise de solventes residuais de cada fármaco devido a diversidade de solventes orgânicos que podem ser utilizados nas sínteses de fármacos, sendo de interesse a elaboração de um guia que contenha diretrizes para a condução das análises (Farmacopeia Brasileira 6ª ed., 2024).

O guia farmacêutico é um documento da qualidade que detém informações fundamentais para a elaboração de qualquer método analítico capaz de determinar os solventes residuais conhecidos e/ou desconhecidos em amostras do processo fabril. Este documento é importante para fazer parte do sistema de informações da garantia da qualidade que estabelece requisitos para controlar, monitorar e registrar a qualidade dos produtos. Para tanto, o guia deve conter informações necessárias para o conhecimento e com detalhes instrutivos suficientes que facilite o entendimento em comum (RDC nº 658 de 30 de março de 2022).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um guia para auxiliar no desenvolvimento de métodos analíticos para a identificação e quantificação de impurezas voláteis e/ou solventes residuais em produtos farmacêuticos. Esse guia é baseado nos compêndios oficiais Farmacopeia Brasileira 6ª ed. e USP 1467 alinhados às Diretrizes do Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos para Uso Humano (ICH).

4.2 METODOLOGIA

O guia teve como base o capítulo de Determinação de Solventes Residuais da Farmacopeia Brasileira 6ª ed. e o da USP 467 *Residual Solvents* associados as diretrizes do ICH Q3A(R8). Primeiramente, foi determinado as orientações para definir as especificações e método de acordo com as características e identificações dos solventes residuais. O fluxograma da figura 20, serve como orientação para a escolha dos métodos farmacopeicos de confirmação, identificação ou quantificação do tipo A, B ou C.

As soluções e suas preparações foram baseadas de acordo com a solubilidade do material em água, método de escolha e com as particularidades exigidas pelos compêndios farmacêuticos. Além disso, foram definidas as orientações para ajuste do gás de arraste, acomodação do equipamento e definições dos parâmetros cromatográficos, como as condições cromatográficas e a do *headspace* que podem atender a vários métodos de análises em cromatografia gasosa.

O guia também possui informações para avaliações dos resultados e os critérios de aceitação de acordo com o método de escolha e solubilidade, além de algumas diferenças entre as avaliações da Farmacopeia Brasileira e Americana. O documento também traz um estudo para teste limite dos solventes conhecidos e uma

orientação para validação de métodos alternativos dos procedimentos de identificação e quantificação das classes de solventes do tipo 1 e 2 USP 467.

Após o desenvolvimento do guia, foi elaborado um estudo de caso com a elaboração de um protocolo de desenvolvimento de método analítico para a determinação dos solventes residuais etanol, diclorometano e acetato de etila em amostras do IFA da Dapsona. Para este estudo, foram utilizadas amostras do IFA Dapsona, oferecido pela UFPE, e as instalações do LAFEPE para o desenvolvimento dos experimentos.

4.3 RESULTADOS

Após avaliação dos parâmetros críticos e essenciais a serem considerados no desenvolvimento de um método analítico para análise de impurezas orgânicas voláteis e/ou solventes residuais em produtos farmacêuticos, chegou-se aos tópicos e considerações descritas abaixo para compor o guia.

4.3.1 Guia Para desenvolvimento de métodos analíticos para a identificação e quantificação de impurezas voláteis e/ou solventes residuais em produtos farmacêuticos

4.3.1.1 Determinação da especificação e solventes a serem controlados na metodologia

Para casos de impurezas já conhecida na fabricação do medicamento, o *Drug master File* (DMF) do fabricante do insumo farmacêutico ativo (IFA) é necessário para verificar quais são os solventes utilizados, e se estão de acordo com o certificado de análise ou se apresenta alguma particularidade a ser considerada. A maioria das especificações utilizadas para solventes residuais encontra-se nas diretrizes do ICH Q3C (R8).

As informações do conteúdo de impurezas e/ou solventes residuais em insumos farmacêuticos precisam ser fornecidas à equipe técnica da instituição para a tomada das decisões quanto à quantificação de impurezas. Essas informações possibilitam definir os níveis de solventes no produto acabado a partir dos níveis encontrados na matéria prima. Isso permite avaliar a redução e/ou eliminação dessas

impurezas já no início do processo, deixando assim, facultativo a análise de solventes residuais no produto final.

Caso os níveis dos solventes residuais estejam superiores aos níveis permitidos ou o produto final seja revestido com algum solvente das classes de impurezas, é obrigatório realizar a identificação e quantificação nos produtos finais para confirmar a redução dos mesmos ou até mesmo a sua eliminação. A Farmacopeia Brasileira 6ª ed. e a USP 467 descreve algumas opções para a escolha análise no medicamento, conforme o quadro 8 a seguir:

Quadro 8 – Opções de escolha para determinação de solventes residuais em produtos farmacêuticos.

É provável que estejam apenas:	Aceitação para a determinação de solventes residuais em produto final.
Apenas Classe 3	Perda por dessecação inferior a 0,5%.
Apenas Classe 2 e com limite inferior da especificação.	Análise acumulativa de solventes residuais em insumos farmacêuticos
Apenas Classe 2 e Classe 3	Análise acumulativa de solventes residuais em insumos farmacêuticos para classe 2 com limite abaixo da especificação e perda por dessecação inferior a 0,5% para classe 3.
Classe 2 e Classe 3 com limites superiores a especificação	Devem ser identificados e quantificados.
Classe 1	Devem ser identificados e quantificados.

Fonte: Farmacopeia Brasileira 6ª ed.

4.3.1.2 Cálculo para a determinação da concentração de trabalho

A identificação de impurezas orgânicas voláteis em produtos farmacêuticos é realizada por meio de comparações do pico da substância química de referência com o pico da impureza da amostra em análise. Para os solventes já conhecidos no produto farmacêutico, pode-se utilizar substâncias químicas caracterizadas, sendo fundamental obter relatório conclusivo de caracterização, incluindo as razões técnicas da escolha dos ensaios e os dados brutos pertinentes. Já para a análise de impurezas desconhecidas, os compêndios oficiais sugerem a utilização de padrões de referência

USP da mistura de classe 1 e padrões de referências USP da mistura A e B da classe 2. Esses padrões são misturas dos solventes residuais de cada classe.

O cálculo realizado para obtenção da concentração de trabalho de cada solvente de interesse é realizado a partir da especificação do ICH em ppm de acordo com cada classe de risco. É permitido a concentração em ppm de solvente residual para 1 grama de matéria-prima e/ ou produto acabado, sendo tomada de ensaio da amostra e sua diluição para calcular a concentração de trabalho conforme a equação a seguir:

$$\text{Concentração em relação a massa} = \frac{ES(\mu g) \times MA (g)}{1(g) \times V(ml)}$$

Onde:

ES: Especificação do solvente residual (μg);

MA: Massa da amostra da solução amostra (g);

V: Volume do Diluente em (ml)

No cálculo da concentração é necessário utilizar a densidade do solvente de interesse para as conversões de medidas.

4.3.1.3 Método de identificação, controle e quantificação de solventes residuais

Os procedimentos A, B e C, disponíveis na farmacopeia brasileira 6ª ed.e na USP, são úteis para a identificação, confirmação e quantificação de impurezas orgânicas voláteis em insumos e produtos farmacêuticos. Esses métodos separam a maioria dos solventes residuais das classes 1, 2 e 3. Porém, os procedimentos não foram validados para os solventes da classe 3. Para tanto, a utilização de outros procedimentos diferentes ou adaptações dos disponíveis nos compêndios deve ser validado.

Os procedimentos A e B são úteis para a identificação e confirmação quando não se tem o conhecimento de quais os solventes residuais específicos estão presentes no material em análise. Para avaliação dos possíveis solventes residuais informados pelo fabricante do insumo, só há a necessidade de quantificar as impurezas utilizando o procedimento de C ou métodos analíticos alternativos validados.

O procedimento A é o de partida para identificar os solventes residuais desconhecidos da solução amostra teste. Caso o resultado da solução amostra aparecer com quantidade de picos superior ou igual a solução padrão, é necessário realizar o procedimento B para a confirmação. Caso contrário, o teste será cumprido e não precisa requer a ação posterior.

Seguindo o procedimento B, caso continue com os picos da solução amostra superiores ou igual aos da solução padrão, encaminhá-los para a realização do procedimento C para a quantificação das impurezas.

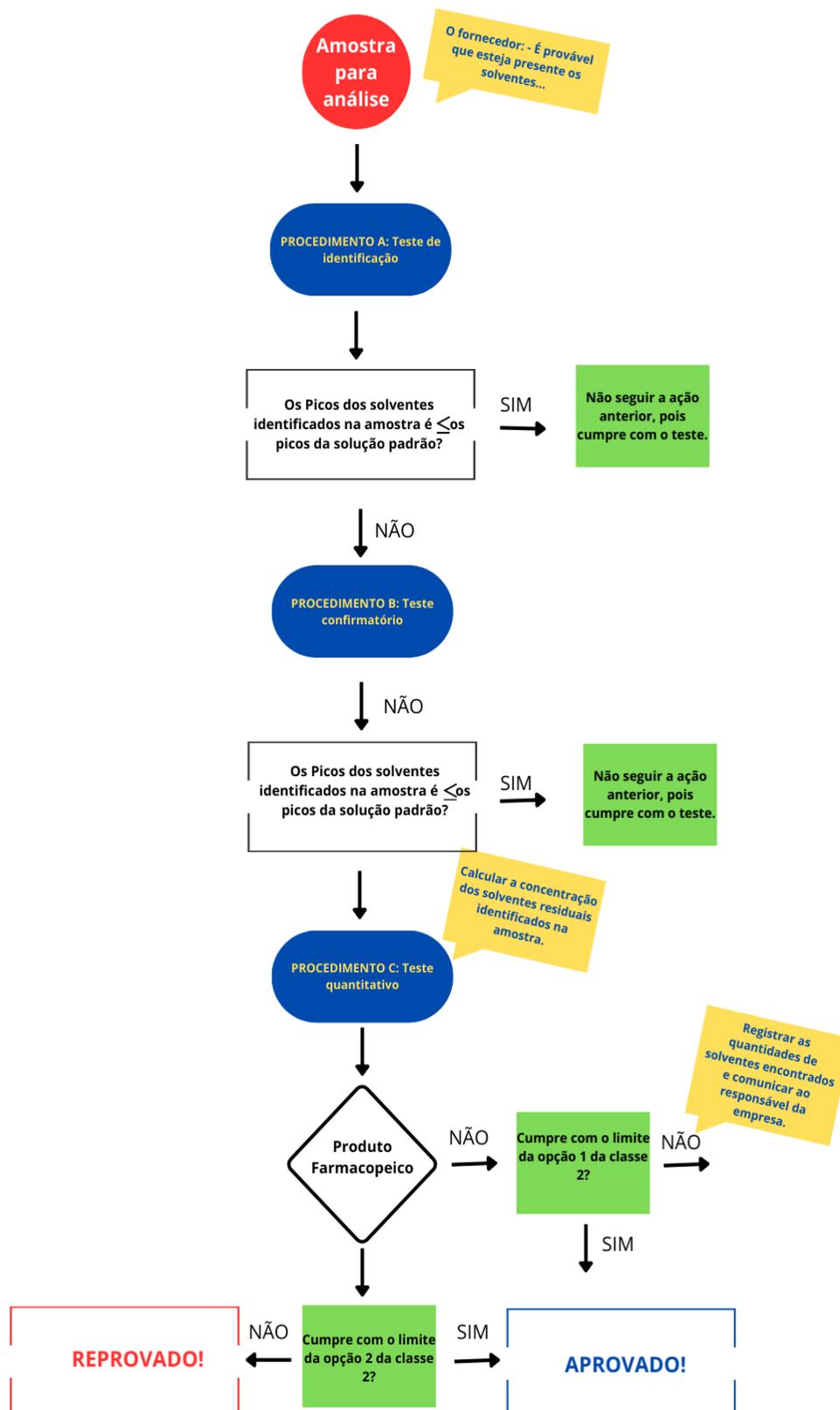
Os solventes da classe 2, formamida, 2- etoxietanol, 2-metoxietanol, etilenoglicol, N-metilpirrolidona e sulfolano, não são facilmente detectados pelo método de identificação, controle e quantificação de solventes disponíveis nos compêndios oficiais. Para tanto, precisam ser identificados por métodos analíticos alternativos validados que demonstram que o mesmo é adequado para a finalidade de identificação desses solventes (Farmacopeia Brasileira 6ed., 2024).

Os resultados do procedimento C precisam ser avaliados pela equipe técnica para a tomada de decisões de ajuste no processo produtivo. Em casos de análises realizadas em matérias primas, as impurezas encontradas devem estar presentes em níveis inferiores aos limites estabelecidos pelo ICH, ou seja, de acordo com a opção 1 ou opção 2 dos compêndios oficiais. Caso cumpra, a análise no produto acabado não é obrigatória para a liberação da produção do medicamento.

Já as análises realizadas em produto final, precisam ser avaliadas quanto a dose diária permitida para verificar a redução dos níveis dos solventes residuais encontrados ou se estão de acordo com a especificação do ICH para a aprovação da liberação do medicamento.

A farmacopeia brasileira apresenta um fluxograma do fluxo inicial para a identificação e aplicação de testes limites para proceder corretamente a determinação de solventes residuais como mostra a figura 1 a seguir:

Figura 13 – Fluxograma referente à identificação de solventes residuais e a aplicação das análises.



Fonte: Adaptado à Farmacopeia Brasileira 6ª ed.

4.3.1.4 Reagentes e materiais para análise

A preparação da amostra é uma etapa crucial no processo analítico, visto que é uma etapa que possui grande influência sobre a confiabilidade dos resultados na análise. É um conjunto de operações químicas e/ou físicas que transforma uma amostragem original numa analítica para facilitar a identificação do analito de forma precisa e exata. Entretanto, em algumas situações, a amostra tem um grau de complexidade que precisa ser trabalhada com diferentes estratégias de vão de acordo com a sua estrutura molecular, interações e características.

O Dimetilsulfóxido é o diluente mais apropriado para realizar as análises de identificação, controle e quantificação de impurezas voláteis por cromatografia gasosa. De acordo com a Farmacopeia Brasileira 6 ed^a, os procedimentos para materiais solúveis em água utilizam o dimetilsulfóxido e a água para as diluições das soluções. Já para os materiais insolúveis em água é recomendado utilizar o solvente dimetilformamida como diluente.

Porém, o dimetilsulfóxido pode ser um solvente alternativo em substituição à dimetilformamida. (Farmacopeia Brasileira 6^a ed.) Os materiais utilizados para análise precisam ser calibrados devido a precisão da técnica e de exclusividade para evitar interpretações errôneas. As amostras para leitura no cromatógrafo gasoso devem ser coletadas do frasco de amostragem de fase gasosa de 20ml vial.

4.3.1.5 Solução padrão, Solução adequabilidade, Solução amostra, Solução Branco e Solução Amostra Contaminada

A preparação das amostras para testes de impurezas orgânicas conhecidas, porém ausentes ou presentes numa concentração inferior ao permitido, deve ser fortificada com concentrações conhecidas do padrão de impurezas. Já em casos de impurezas desconhecidas, deve ser avaliado o ativo e a matriz da amostra com a concentração correspondente ao limite de aceitação da impureza. (RDC nº 166 de 24 de julho de 2017)

Para os procedimentos A, B e C dos materiais solúveis ou insolúveis em água e solventes desconhecidos, será necessário preparar as soluções:

OBS.: Todas as soluções devem ser preparadas em triplicatas, exceto as soluções padrões de estoque de identificação e padrão de identificação.

- 1- Solução padrão estoque da classe 1
- 2- Solução padrão classe 1;
- 3- Solução padrão estoque da classe 2 A e B;
- 4- Solução padrão A da classe 2;
- 5- Solução padrão B da classe 2;
- 6- Solução amostra estoque;
- 7- Solução amostra;
- 8- Solução adequabilidade do sistema da classe 1.
- 9- Solução Padrão estoque de identificação;
- 10- Solução Padrão de identificação;
- 11- Solução amostra contaminada.

No caso de solventes residuais conhecidos e/ ou informados pelos fabricantes para métodos alternativos, será necessário preparar as seguintes soluções:

- 1- Solução padrão estoque do solvente conhecido;
- 2- Solução padrão;
- 3 - Solução amostra estoque;
- 4 - Solução amostra;
- 5- Solução adequabilidade do sistema (Pode ser um vial da solução padrão ou outra solução ideal para mostrar a reprodutibilidade do sistema);
- 6- Solução amostra contaminada.

Durante as diluições das soluções, a ponta da ponteira deve ser introduzida logo abaixo da superfície do diluente para evitar que ocorra a volatilização de algum solvente em identificação. As análises devem ser iniciadas com a separação das vidrarias e reagentes, além de certificar validade, pureza, concentrações e registrar os prazos de validade. A solução branco, que na maioria das vezes é o diluente, é preparada e injetada primeiro para a confirmação de nenhuma contaminação de impureza no diluente.

Com o mesmo propósito, preparar as soluções padrões estoque da classe 1 e da mistura A e B da classe 2 respectivamente. Essas soluções são de partida para a preparação das soluções padrões de referência que serão analisadas inicialmente no equipamento. A solução adequabilidade e/ou resolução são definidas durante o desenvolvimento do método analítico que pode ser a injeção de 5 ou 6 vials das soluções padrão ou a mesma quantidade de uma solução específica.

Essa por sua vez, é verificada criteriosamente logo no início da corrida, sendo necessário avaliar os parâmetros de interpretações cromatográficas como fator de cauda, sinal/ ruído, número de pratos teóricos, desvio padrão relativo e resolução. É necessário injetar cinco vezes a solução adequabilidade do sistema de vials diferentes para evitar a perda dos solventes voláteis. Em caso de desvio padrão relativo acima de 2, injetar uma sequência inicial de 6 vials da amostra de adequabilidade do sistema.

De acordo com os compêndios oficiais, para a preparação da solução amostra estoque de materiais solúveis em água é preciso de 250mg da amostra teste, já para os materiais insolúveis em água cerca de 500 mg da amostra teste é sugerido. Para métodos alternativos, pode utilizar o equivalente ao peso médio da amostra teste para a massa da solução amostra, sendo critério de escolha da equipe técnica. É importante verificar a identificação correta da amostra antes da pesagem como nome do produto, lote e validade.

Existem substâncias em medicamentos que são de difícil solubilidade, então é necessário primeiramente reduzir o produto farmacêutico a pó fino, de modo a liberar qualquer solvente residual que possa estar presente. Porém, a maioria dos produtos são solúveis em DMSO. Além disso, os procedimentos devem ser realizados com água livre de substâncias orgânicas para evitar a presença de picos que possam interferir significativamente no cromatograma. A solução amostra pode ser 5 vezes a diluição da solução amostra estoque.

A Farmacopeia Brasileira 6ª ed. e a USP estabelece a preparação de soluções padrões de referência USP de mistura de cada classe para os procedimentos A, B e C. Contudo, para procedimentos do tipo C, onde as impurezas são conhecidas, pode também utilizar o padrão de referência caracterizado, sendo necessário definir as concentrações do solvente residual de acordo com a especificação e preparar a solução padrão estoque contaminada, solução padrão estoque, solução padrão e solução amostra contaminada com as soluções mencionadas anteriormente.

4.3.1.6 Verificação e ajuste do gás de arraste

É primordial verificar quais são os gases utilizados no método, e se a pressão no manômetro está entre 50 e 100 psi. Os gases de arraste disponíveis são o hélio, nitrogênio e hidrogênio, e a escolha será definida durante o desenvolvimento do método analítico. Geralmente é utilizado o nitrogênio na maioria dos protocolos do

devido ao seu custo-benefício, segurança e boa sensibilidade. O gás hidrogênio e o ar sintético são utilizados para a combustão do detector FID.

É importante também certificar das condições de pureza dos cilindros dos gases através da verificação do laudo técnico do fabricante para evitar que algumas impurezas interfiram nos resultados. Não deixar acabar todo o conteúdo do gás no cilindro para evitar possíveis contaminações. Recomenda-se o controle diário da troca dos cilindros para a manutenção da passagem de gás puro em todo sistema.

4.3.1.7 Acomodação do equipamento e definição dos parâmetros cromatográficos

A acomodação do equipamento precisa ocorrer no mínimo 30 minutos antes dos preparativos da amostra para obter um tempo suficiente de estabilidade da linha de base. Essa estabilidade permite um condicionamento entre o sistema cromatográfico, equilibrando o injetor, a coluna e o detector às temperaturas e aos fluxos dos gases especificados do método. O início da corrida cromatográfica ocorre com os sinais de liberação do equipamento para a análise. Ao término da corrida, acionar o sistema shutDown para iniciar a redução da temperatura e pressão do sistema até a sua finalização.

4.3.1.8 Condições Cromatográficas do *headspace*

O equipamento também precisa estar apto aos parâmetros do *headspace* para adquirir intervalos de tempos corretos entre as amostras a ser injetadas, temperatura, pressão e outros parâmetros ideais que promovam a formação de vapores para serem injetados. É importante sempre avaliar a estabilidade da linha de base, pois serve como indicativo de que o sistema está apto para sequenciar a análise.

Além das condições do cromatógrafo gasoso, os parâmetros operacionais do injetor de fase gasosa são fundamentais para a sensibilidade do sistema. Na farmacopeia brasileira 6ª ed. estão disponíveis condições ideais para iniciar um método de identificação e quantificação de solventes residuais, podendo sofrer alterações conforme recomendações do fabricante do instrumento, sendo necessário o cumprimento dos critérios dos métodos. O importante é sempre alinhar esses

parâmetros do *headspace* ao método estabelecido para obter uma boa sensibilidade do instrumento.

Durante a alimentação das condições do *headspace*, definir a temperatura da linha de transferência entre as corridas para evitar a condensação dos solventes, além da sobreposição de vials da sequência. Sugere deixar um tempo entre 5 a 7 minutos de intervalo entre as corridas. Os parâmetros operacionais para o *headspace* estão no quadro 9 a seguir:

Quadro 9 – Parâmetros operacionais para o Headspace.

CARACTERÍSTICAS	DESCRIÇÃO		
	1	2	3
Temperatura de equilíbrio/ incubação	80	105	80
Tempo de equilíbrio/ incubação(minutos)	60	45	45
Temperatura da seringa/ loop	80-90	105-115	80-90
Temperatura da linha de transferência	85	110	105
Tempo de pressurização(s)	≥ 60	≥ 60	≥ 60
Volume de injeção(ml)	1	1	1

Fonte: Farmacopeia Brasileira 6^oed

4.3.1.9 Condições cromatográficas e procedimentos

As condições cromatográficas precisam ser definidas de modo a apresentar cromatogramas com picos simétricos, de boa resolução, alta sensibilidade e precisão ao método. Os compêndios oficiais sugerem parâmetros que diferem quanto a amostras solúveis e insolúveis em água tanto aos procedimentos A, B e C. Os sistemas cromatográficos podem ser modificados de acordo com o fabricante do equipamento, e também durante o desenvolvimento do método para otimizar a sensibilidade da técnica.

4.3.1.10 Materiais solúveis em água

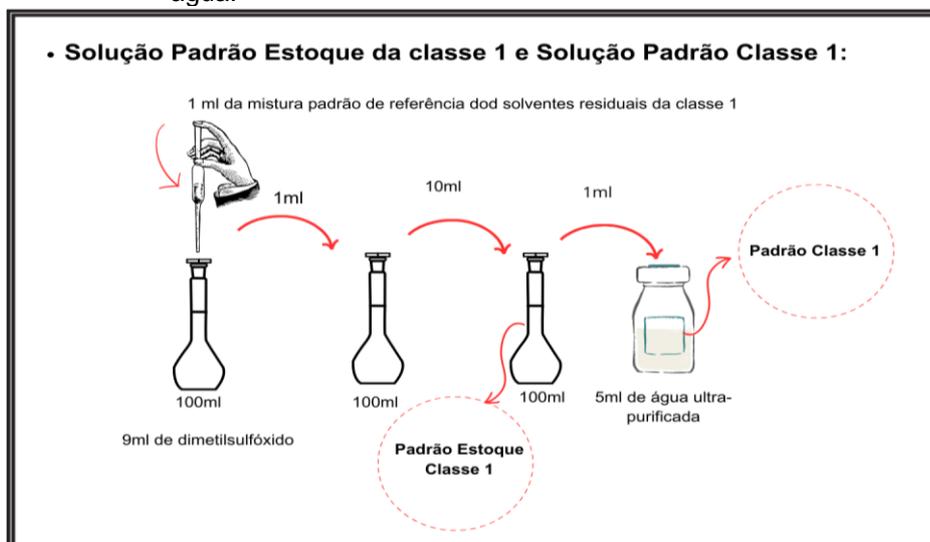
4.3.1.10.1 Procedimento A: Serve para identificar solventes desconhecidos, presentes ou não na amostra.

Para o procedimento A, preparar as soluções de padrão estoque classe 1 solução padrão estoque da classe 2 mistura A e da mistura B, soluções padrão da classe 1, solução padrão classe 2 mistura A e mistura B, solução amostra estoque, solução amostra e solução de adequabilidade do sistema da classe 1. O dimetilsulfóxido será somente utilizado para preparar a primeira diluição da solução padrão estoque da classe 1. As demais diluições devem-se utilizar a água ultrapurificada como meio de diluição.

As preparações das soluções estoque dos padrões da classe 1 e da classe 2 podem ser preparadas utilizando os padrões mix ou individuais de referência USP de cada classe ou os padrões de solventes caracterizados. Vale ressaltar que, o ideal é utilizar o mix de padrões USP sugeridos pelas farmacopeias nas análises de materiais com solventes desconhecidos.

As soluções padrões classe 1, padrão classe 2 da mistura A e mistura B, solução amostra e solução de adequabilidade são preparadas diretamente no vial. Todas as preparações e diluições do procedimento A são demonstradas na figura 2 a seguir:

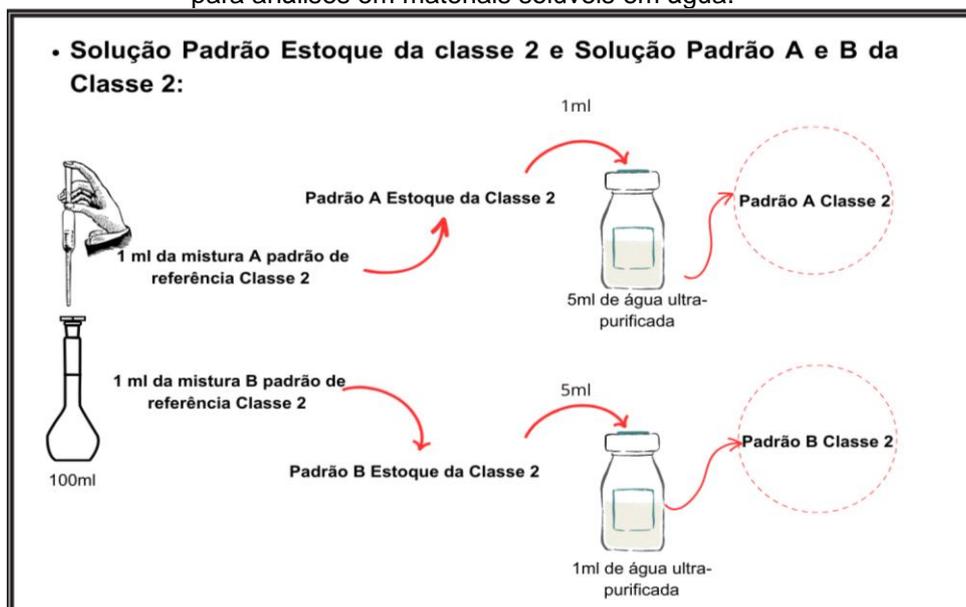
Figura 14 – Ilustração da preparação das Soluções Padrão Estoque Classe 1 e Padrão Classe 1 para análises em materiais solúveis em água.



Fonte: Próprio da autora.

As preparações das soluções padrão estoque da classe 2 mistura A e B e solução padrão da classe 2 mistura A e B, pode ser utilizados os padrões referência USP mistura A e B, isso quando não tem conhecimento dos solventes residuais contidos na amostra, ou padrões referência USP de cada solventes individualizados da classe 2, quando já tem conhecimento dos solventes residuais presentes na amostra em análise conforme a figura 3 a seguir:

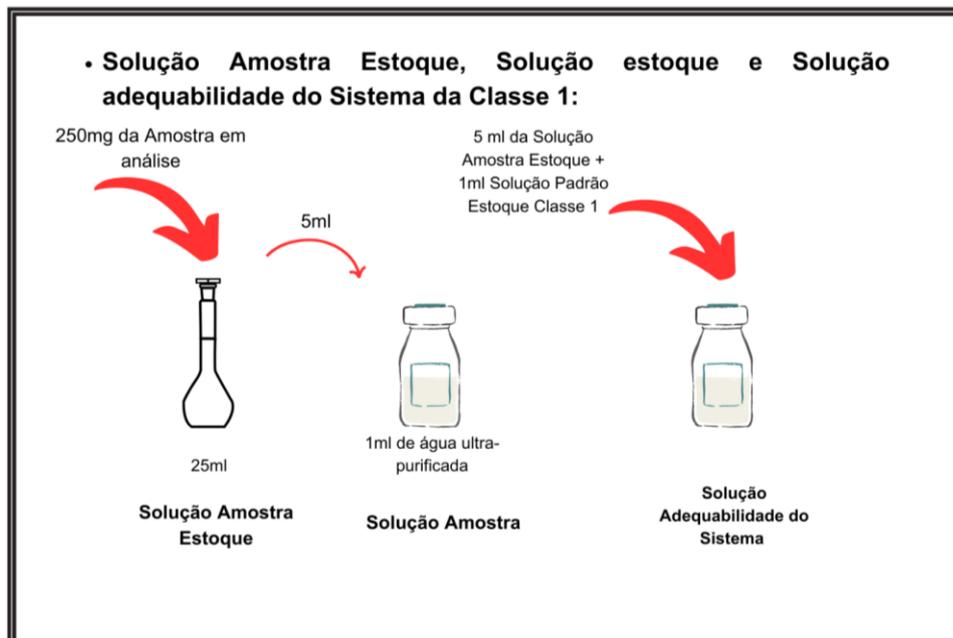
Figura 15 – Ilustração da preparação das Soluções Padrão Estoque da Classe 2 Mistura (A e B) e Solução Padrão da Classe 2 Mistura (A e B) para análises em materiais solúveis em água.



Fonte: Próprio da autora.

A solução de adequabilidade do sistema da classe 1 deve ser preparada utilizando a solução padrão estoque da classe 1 e a solução amostra estoque. Esta por sua vez, deve conter uma concentração inicial de 10g/l para obter uma solução amostra de concentração final de aproximadamente 8,33 mg/ml, conforme a figura 4 a seguir:

Figura 16 – Ilustração da preparação das Soluções Amostra Estoque, Solução Amostra e Solução Adequabilidade do sistema da classe 1 para análises em materiais solúveis em água.



Fonte: Próprio da autora.

As condições cromatográficas para o procedimento A para amostras solúveis em água estão descritas conforme o quadro 10 a seguir:

Quadro 10 – Procedimento A - Condições cromatográficas para amostras solúveis em água.

CARACTERÍSTICAS	DESCRIÇÃO
Técnica	Cromatografia Gasosa
Detector	FID
Coluna	DB-640 (0,32mm x 30m x 1,8µm ou 0,53mm x 30m x 3 µm)
Gás de arraste	Nitrogênio/Hélio
Velocidade linear	35 cm/s
Sistema de injeção	Headspace
Split CG	(1:5)
Tempo de análise	60 min
Temperatura do injetor	140°C
Temperatura do detector	250°C

Fonte: Farmacopeia Brasileira 6ª ed.

As características da rampa de aquecimento para o procedimento A para amostras solúveis em água estão descritas conforme o quadro 11 a seguir:

Quadro 11 – Procedimento A - Rampa de aquecimento.

Temperatura Inicial (°)	Temperatura rampa (°/min)	Temperatura final (°)	Tempo de espera (min)
40°C	0°C	40°C	20
40°C	10°C	240°C	-
240°C	0	240°C	20

Fonte: Farmacopeia Brasileira 6ª ed.

Ensaio

A corrida cromatográfica deve iniciar com a sequência de solução padrão da classe 1, solução de adequabilidade do sistema classe 1 e a solução padrão A da classe 2 para verificação da adequabilidade do sistema de acordo com a avaliação da relação sinal/ruído dos picos, resoluções e os desvios padrão relativo. Após confirmação que o sistema cromatográfico se encontra apto para análise, inicia-se a segunda corrida com a sequência de solução padrão da classe 1, solução padrão A da classe 2, solução padrão B da classe 2 e solução amostra. Registrar os cromatogramas e medir as respostas dos picos principais.

Avaliação

Os requisitos para avaliação da adequabilidade do sistema do procedimento A das Solução padrão da classe 1, a solução de adequabilidade do sistema classe 1 e a solução padrão A da classe 2, constitui que a relação sinal/ruído do pico 1,1,1-tricloroetano, na solução padrão da classe 1, é de no mínimo 5, a relação sinal/ruído de cada pico, na solução adequabilidade do sistema da classe 1, é de no mínimo 3 e a resolução R entre os picos de acetonitrila e cloreto de metileno, na solução A da classe 2, é de no mínimo 1.

Crítérios de aceitação

Para cumprir com os requisitos do procedimento A não deve haver na amostra teste quaisquer picos diferente do pico 1,1,1- tricloroetano que sejam maiores ou igual ao correspondente da solução padrão da classe 1, ou respostas maiores de quaisquer picos obtido da solução padrão da classe 2 (A e B). Também, não deve conter respostas do pico 1,1,1- tricloroetano maior ou igual a 150 vezes a resposta do pico 1,1,1- tricloroetano correspondente da solução padrão da classe 1. Caso sejam observadas respostas contrárias aos requisitos acima, deve-se proceder o procedimento B para confirmação do pico.

Após execução do procedimento B, a amostra cumpre com o procedimento A quando não for detectado nenhum pico diferente dos critérios de aceitação expostos.

4.3.1.10.2 *Procedimento B: Serve para conferir os solventes presentes na amostra.*

Para o procedimento B, preparar as soluções de padrão estoque classe 1, solução padrão estoque da classe 2 Mistura (A e B), soluções padrão da classe 1, solução padrão classe 2 Mistura (A e B), solução amostra estoque, solução amostra e solução adequabilidade do Sistema da Classe 1, conforme o procedimento A.

As condições cromatográficas para o procedimento B para amostras solúveis em água estão descritas conforme a o quadro 12 a seguir:

Quadro 12 – Procedimento B - Condições cromatográficas para amostras solúveis em água.

CARACTERÍSTICAS	DESCRIÇÃO
Técnica	Cromatografia Gasosa
Detector	FID
Coluna	DB-WAX(0,32mm x 30m x 0,25µm ou 0,53mm x 30m x 0,25 µm)
Gás de arraste	Nitrogênio/Hélio
Velocidade linear	35 cm/s
Sistema de injeção	Headspace
Split CG	(1:5)
Tempo de análise	60 min
Temperatura do injetor	140°C
Temperatura do detector	250°C

Fonte: Farmacopeia Brasileira 6ª ed.

As características da rampa de aquecimento para o procedimento B para amostras solúveis em água estão descritas conforme a tabela 5 a seguir:

Quadro 13 – Procedimento B - Rampa de aquecimento.

Temperatura Inicial (°)	Temperatura rampa (°/min)	Temperatura final (°)	Tempo de espera (min)
50°C	0°C	50°C	20
50°C	6°C	165°C	-
165°C	0	165°C	20°C

Fonte: Farmacopeia Brasileira 6ª ed.

Ensaio

A corrida cromatográfica deve iniciar com a sequência de solução padrão da classe 1 e solução de adequabilidade do sistema classe 1 para verificação da estabilidade do sistema, de acordo com a avaliação da relação sinal/ruído dos picos, resoluções e os desvios padrão relativo. Após confirmação que o sistema cromatográfico se encontra apto para análise, inicia-se a segunda corrida com uma sequência de solução padrão da classe 1, solução padrão A da classe 2, solução padrão B da classe 2 e da solução amostra. Registrar os cromatogramas e medir as respostas dos picos principais.

Avaliação

Os requisitos para avaliação da adequabilidade do sistema do procedimento B das Solução padrão da classe 1 e a solução de adequabilidade do sistema classe 1, constitui que a relação sinal/ruído do pico benzeno, na solução padrão da classe 1, é de no mínimo 5, a relação sinal/ruído de cada pico, na solução adequabilidade do sistema da classe 1, é de no mínimo 3 e a resolução R entre os picos acetonitrila e cis-dicloroetano na mistura de Classe 2 da solução padrão A é no mínimo 1,0.

Crítérios de Aceitação

Caso as respostas dos picos identificados na solução amostra do procedimento A, forem iguais ou maiores que as dos picos correspondentes obtidos na solução padrão da classe 1 ou em qualquer uma das duas soluções padrão da

classe 2 mistura (A e B), deve seguir com o procedimento C para quantificar os analitos. Caso contrário, se não for detectado nenhum pico dentro dos critérios estabelecidos acima, a amostra cumpre com os requisitos deste ensaio.

4.3.1.10.3 Procedimento C: Serve para quantificar os solventes presentes na amostra.

A solução padrão do procedimento C pode ser preparada com Substâncias Químicas de Referência USP de cada pico identificado e confirmado ou com Substância Química de Referência Caracterizada, desde que apresente o laudo de caracterização. O sistema cromatográfico do procedimento C é o mesmo do procedimento A, porém o procedimento B pode ser realizado contanto que as suas respostas sejam melhores quando comparadas com o procedimento A, sendo necessário a avaliação da equipe técnica.

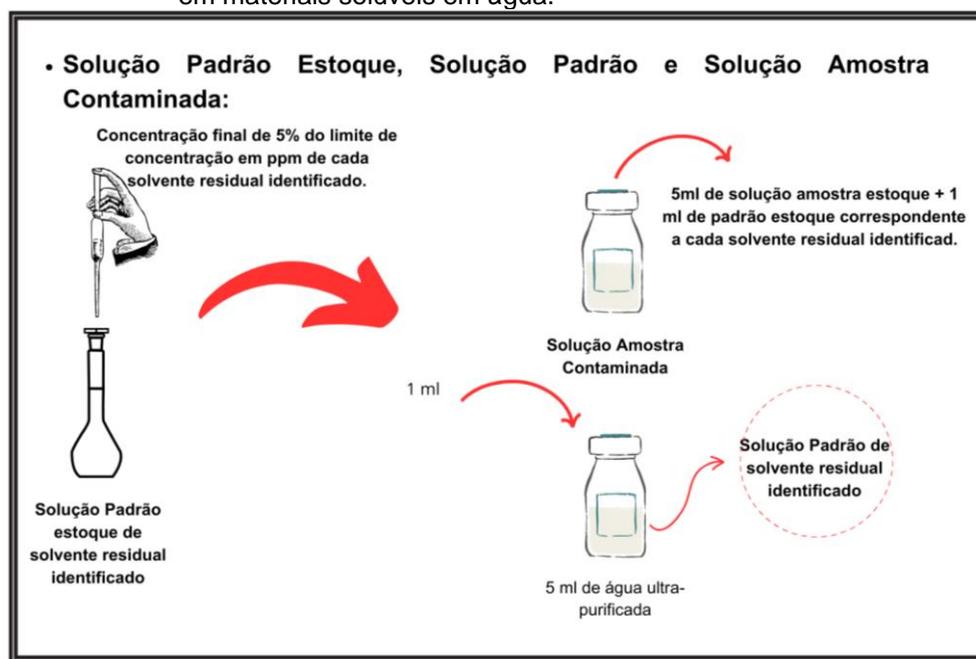
O que difere na análise quantitativa é na inclusão de solução padrão estoque/ solução padrão para cada pico identificado e confirmado de acordo com o procedimento A e B, além da solução amostra com a adição de uma quantidade conhecida do analito de cada pico identificado e confirmado para analisar quantitativamente os solventes encontrados. De acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª ed., a corrida do procedimento C, deve conter todas as soluções mencionadas nos procedimentos A, além das soluções de inclusão para análise quantitativa.

Contudo, a USP 467, não deixa claro a necessidade da preparação das soluções mencionadas no procedimento A, porém é claro que a solução amostra precisa entrar na corrida. Todas as soluções incluídas no procedimento C devem utilizar a água ultrapurificada como meio de diluição, somente a primeira diluição da solução padrão estoque classe 1 que são adicionados aproximadamente 9 ml de dimetilsulfóxido.

Será necessário preparar soluções padrão estoque de cada pico identificado e confirmado anteriormente, conforme o procedimento A e B. Os picos diferentes do solvente 1,1,1- tricloroetano da classe 1 devem ter a primeira diluição preparada conforme o procedimento A, e a segunda, deve conter uma concentração final de 5% do valor limite da concentração em ppm de cada classe de solvente. (Quadros 10 e 11, 12 e 13).

A solução amostra contaminada deve ser preparada com a adição de uma quantidade conhecida de cada padrão dos solventes residuais encontrados anteriormente. A contaminação é com a solução padrão estoque na solução amostra estoque, que está por sua vez, deve ser preparada conforme o procedimento A como mostra a figura 17 a seguir:

Figura 17 – Ilustração da preparação das Soluções Padrão Estoque, Solução Padrão e Solução Amostra com uma quantidade conhecida adicionada para quantificação de solventes residuais para análises em materiais solúveis em água.



Fonte: Próprio da autora.

Ensaio

A corrida cromatográfica deve iniciar com a sequência de solução padrão da classe 1, a solução de adequabilidade do sistema da classe 1 e padrão da classe 2 mistura A para a verificação da adequabilidade do sistema de acordo com a avaliação da relação sinal/ruído dos picos, resoluções e os desvios padrão relativo. Após confirmação que o sistema cromatográfico se encontra apto para análise, inicia-se a segunda corrida com a sequência de solução padrão de cada solvente, solução amostra e solução amostra contaminada. Após o término, registrar os cromatogramas e medir as respostas dos picos principais.

Avaliação

Os requisitos para avaliação da adequabilidade do sistema do procedimento C das Solução padrão da classe 1, a solução de adequabilidade do sistema classe 1 e a solução padrão A da classe 2 são as mesmas do procedimento A.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª ed.: A relação sinal/ruído do pico 1,1,1-tricloroetano, na solução padrão da classe 1, é de no mínimo 5, a relação sinal/ruído de cada pico, na solução adequabilidade do sistema da classe 1, é de no mínimo 3 e a resolução R entre os picos de acetonitrila e cloreto de metileno, na solução A da classe 2, é de no mínimo 1. Na Farmacopeia Americana (USP 1467), a relação sinal/ ruído será de acordo com os parâmetros do procedimento A ou B escolhido para realizar o procedimento C.

De acordo com a USP 467: Procedimento A escolhido: A relação sinal/ ruído para qualquer solvente encontrado é de 10, exceto para 1,1,1-tricloroetano que é 5. Para qualquer outro solvente da classe 1 é 3. Se houver mais de um solvente, a resolução entre um pico de interesse e qualquer pico adjacente é 1,0.

Procedimento B escolhido: A relação sinal/ ruído para qualquer solvente encontrado é de 10, exceto para benzeno que é 5. Para qualquer outro solvente da classe 1 é 3. Se houver mais de um solvente, a resolução entre um pico de interesse e qualquer pico adjacente é 1,0.

Cálculo quantitativo

Calcular a quantidade, em ppm, de cada solvente residual encontrado no material em teste, de acordo com a equação a seguir:

$$Conc. (ppm) = 5 (C/M)[rSA/(rSAC - rSA)]$$

Onde:

C= Concentração, em µg por ml, da solução padrão referência correspondente a solução padrão estoque.

M= Peso, em g, da amostra em estudo para preparar a solução amostra estoque;

rSA= Resposta do pico de cada solvente residual obtida da solução amostra;

rSAC= Resposta do pico de cada solvente residual obtida da solução amostra contaminada com o padrão estoque.

De acordo com a RDC de validação nº 166, a faixa de trabalho para análise de determinação de impurezas é de até 120% da concentração limite da especificação de cada impureza individualmente. (RDC nº 166, de 24 de julho de 2017)

4.3.1.11 Materiais insolúveis em água

Os compêndios oficiais, Farmacopeia Brasileira 6ª ed. e USP 467 indicam o diluente dimetilformamida para preparação das soluções em análise de materiais insolúveis em água. Contudo, também eles afirmam que poder utilizar o dimetilsulfóxido como reagente alternativo em substituição da dimetilformamida, sendo definido pela equipe técnica.

A Farmacopeia Brasileira 6ª ed. sugere a utilização do gás hélio como o gás de arraste para as análises em materiais insolúveis em água, porém a Americana 1467 deixa livre a utilização dos gases hélio, nitrogênio e hidrogênio para a mesma finalidade.

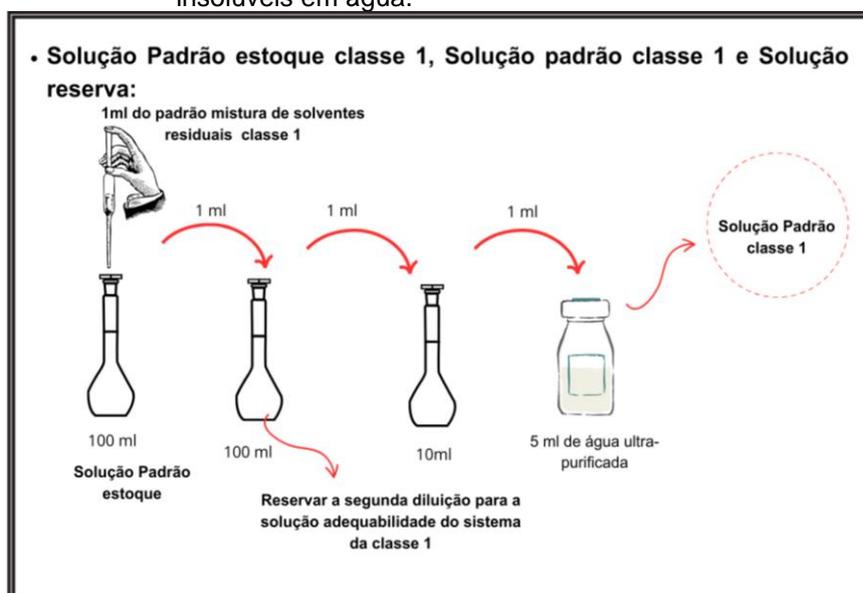
4.3.1.11.1 Procedimento A

Para o procedimento A, preparar as soluções de padrão estoque classe 1, solução padrão da classe 1, solução padrão estoque mistura da classe 2 mistura (A e B), solução padrão mistura A da classe 2, solução padrão mistura B da classe 2, solução amostra estoque, solução amostra, solução adequabilidade do sistema da classe 1.

As soluções estoques utilizam somente o solvente dimetilformamida como diluente. Já para as demais, a diluição é diretamente no vial contendo água purificada. A preparação da solução amostra estoque é a mesma do procedimento A para materiais solúveis em água, porém utilizando dimetilformamida para obter uma concentração de 50mg/ml. A solução amostra contém uma concentração final de 8,33 mg/ml.

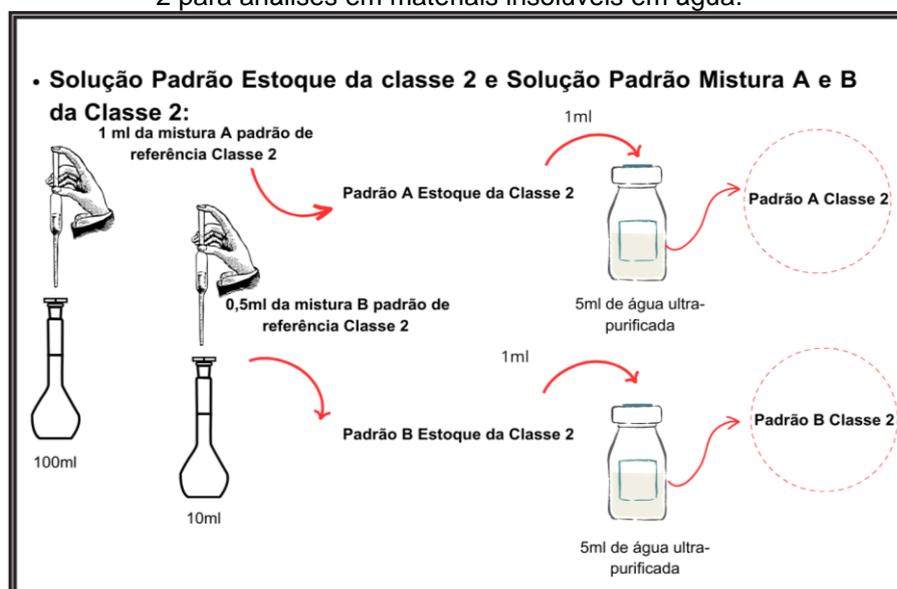
A preparação da solução adequabilidade do sistema é através da homogeneização da solução amostra estoque com a solução reserva da primeira diluição da solução padrão estoque da classe 1 para obter uma concentração inicial de 10 v/v. Em seguida, uma concentração final de 1,67 v/v com água purificada diretamente no vial. As preparações das soluções do procedimento A para amostras insolúveis em água estão ilustradas conforme as figuras 18, 19 e 20 a seguir:

Figura 18 – Ilustração da preparação das Soluções Padrão Estoque Classe 1 e Padrão Classe 1 para análises em materiais insolúveis em água.



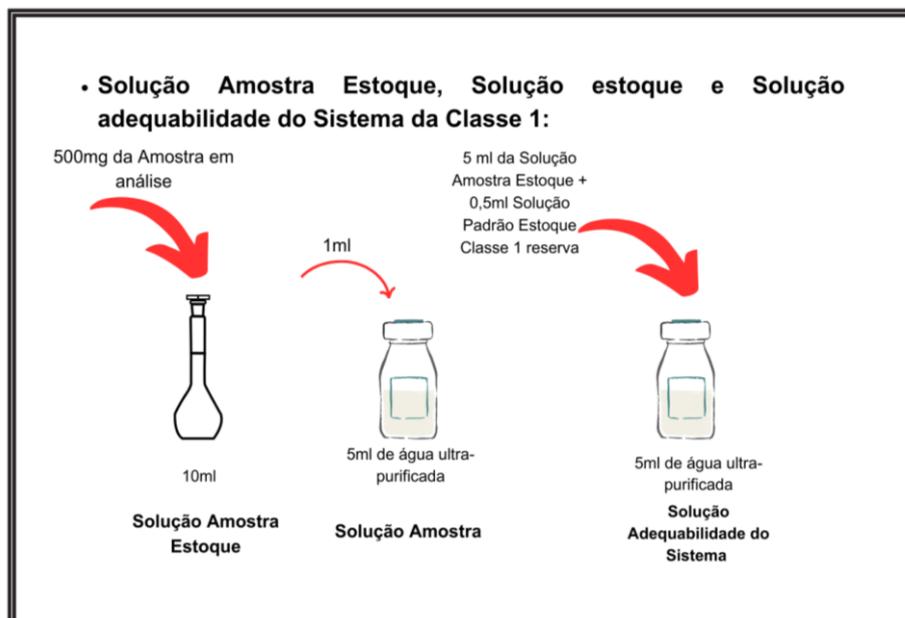
Fonte: Próprio da autora.

Figura 19 – Ilustração da preparação das Soluções Padrão Mistura Estoque Classe 2 e Padrão Mistura A da Classe 2 e Mistura B da Classe 2 para análises em materiais insolúveis em água.



Fonte: Próprio da autora.

Figura 20 – Ilustração da preparação das Soluções Amostra Estoque, Solução Amostra e Solução Adequabilidade do sistema da classe 1 para análises em materiais insolúveis em água.



Fonte: Próprio da autora.

As condições cromatográficas para o procedimento A para amostras insolúveis em água estão descritas conforme o quadro 14 a seguir:

Quadro 14 – Procedimento A - Condições cromatográficas para amostras insolúveis em água.

CARACTERÍSTICAS	DESCRIÇÃO
Técnica	Cromatografia Gasosa
Detector	FID
Coluna	DB-640 (0,53mm x 30m x 3,0µm)
Gás de arraste	Hélio
Velocidade linear	35 cm/s
Sistema de injeção	Headspace
Split CG	(1:3)
Tempo de análise	60 min
Temperatura do injetor	140°C
Temperatura do detector	250°C

Fonte: Farmacopeia Brasileira 6ª ed.

O quadro 15 mostra as características da rampa de aquecimento do procedimento A para amostras insolúveis em água.

Quadro 15 – Procedimento A- Rampa de aquecimento.

Temperatura Inicial (°C)	Temperatura rampa (°C/min)	Temperatura final (°C)	Tempo de espera (min)
40°C	0°C	40°C	20
40°C	10°C	240°C	-
240°C	0	240°C	20

Fonte: Farmacopeia Brasileira 6ª ed.

Ensaio

A corrida cromatográfica deve iniciar com a sequência de solução padrão da classe 1, solução de adequabilidade do sistema classe 1 e a solução padrão A da classe 2. Registrar os cromatogramas e avaliar as respostas de sinal/ruído, resolução e desvio padrão relativo. Após confirmação que o sistema cromatográfico encontra-se apto para análise, inicia-se a segunda corrida com a sequência de solução padrão da

classe 1, solução padrão A da classe 2, solução padrão B da classe 2 e da solução amostra. Após o término, registrar os cromatogramas e medir as respostas dos picos principais. Para esse ensaio, os compêndios oficiais sugerem utilizar os parâmetros operacionais da coluna 3 da tabela 3 para melhor sensibilidade ao método.

Avaliação

Os requisitos para avaliação da adequabilidade do sistema do procedimento A das Solução padrão da classe 1, a solução de adequabilidade do sistema classe 1 e a solução padrão A da classe 2, constitui que, a relação sinal/ruído do pico 1,1,1-tricloroetano, na solução padrão da classe 1, é de no mínimo 5, a relação sinal/ruído de cada pico, na solução adequabilidade do sistema da classe 1, é de no mínimo 3 e a resolução R entre os picos de acetonitrila e cloreto de metileno, na solução A da classe 2, é de no mínimo 1.

CrITÉrios de Aceitação

Para cumprir com os requisitos do procedimento A, não deve haver na amostra teste nenhuma resposta de picos diferente do pico 1,1,1- tricloroetano que seja maior ou igual ao correspondente da solução padrão da classe 1, ou em qualquer das duas soluções padrão da classe 2 (A e B). Também, não deve conter resposta do pico 1,1,1- tricloroetano maior ou igual a 150 vezes a resposta do pico correspondente a 1,1,1- tricloroetano da solução padrão da classe 1. Caso sejam observadas respostas contrárias aos requisitos acima, deve-se proceder o procedimento B para verificar a identidade do pico.

Após execução do procedimento B, a amostra cumpre com o procedimento A quando não for detectado nenhum pico diferente dos critérios de aceitação expostos.

4.3.1.11.2 Procedimento B

Para o procedimento B, preparar as soluções de padrão estoque classe 1, solução padrão estoque da classe 2(A e B), soluções padrão da classe 1, solução padrão classe 2(A e B), solução amostra estoque, solução amostra e solução adequabilidade do sistema da classe 1, conforme o procedimento A para amostras insolúveis. O sistema cromatográfico pode ser o mesmo do procedimento B para materiais solúveis em água com a relação de partição de 1:3, podendo ser modificado para otimizar a sensibilidade.

Ensaio

A corrida cromatográfica deve iniciar com a sequência de solução padrão da classe 1, solução de adequabilidade do sistema classe 1 e a solução padrão A da classe 2 para a verificação da adequabilidade do sistema de acordo com a avaliação da relação sinal/ruído dos picos, resoluções e os desvios padrão relativo. Após confirmação que o sistema cromatográfico se encontra apto para análise, inicia-se a segunda corrida com a sequência de solução padrão da classe 1, solução padrão A da classe 2, solução padrão B da classe 2 e da solução amostra. Após o término da análise, registrar os cromatogramas e medir as respostas dos picos principais. Para esse ensaio, os compêndios oficiais também sugerem utilizar os parâmetros operacionais da coluna 3 da tabela 3 para melhor sensibilidade ao método.

Avaliação

Requisitos para avaliação da adequabilidade do sistema do procedimento B das Solução padrão da classe 1, a solução de adequabilidade do sistema classe 1 e a solução padrão A da classe 2, constitui que, a relação sinal/ruído do pico benzeno, na solução padrão da classe 1, é de no mínimo 5, a relação sinal/ruído de cada pico, na solução adequabilidade do sistema da classe 1, é de no mínimo 3 e a resolução R entre os picos acetonitrila e cis-dicloroeteno na mistura de Classe 2 da solução padrão A é no mínimo 1,0.

Crêterios de Aceita o

Caso as respostas dos picos na soluço amostra, identificados no procedimento A, forem iguais ou maiores que as dos picos correspondentes obtidos com a soluço padrão da classe 1 ou qualquer uma das duas solu es padrão da classe 2 (A e B), deve seguir com o procedimento C para quantificar os analitos. Porém, se não for detectado nenhum pico dentro dos cr terios estabelecidos acima, a amostra cumpre com os requisitos deste ensaio.

4.3.1.11.3 Procedimento C

Para o procedimento C, preparar as solu es de padrão estoque classe 1, soluço padrão estoque da classe 2 da mistura A, solu es padrão da classe 1, soluço padrão classe 2 da mistura A, soluço de adequabilidade classe 1, soluço amostra estoque, soluço amostra e amostra contaminada seguindo conforme o procedimento A.

O sistema cromatográfico   o mesmo do procedimento C para materiais solúveis em  gua. O mesmo ocorre com a soluço padrão estoque individual e soluço padrão individual de cada solvente identificado e confirmado, porém utilizado a dimetilformamida como reagente, ou até mesmo o dimetilsulfóxido caso tenha sido definido pela equipe técnicas para a prepara o de solu es.

A soluço amostra contaminada deve ser preparada individualmente para cada pico do solvente identificado e confirmado, sendo adicionada uma quantidade conhecida do padrão de cada solvente na soluço amostra estoque, e depois, diluída em água diretamente no vial.

Ensaio

A corrida cromatográfica deve iniciar com a sequência de soluço padrão contaminada de cada pico identificado, a soluço de adequabilidade do sistema da classe 1, solu es padrões classe 1 e classe 2 mistura A para verifica o da adequabilidade do sistema de acordo com a avalia o da rela o sinal/ruído dos picos, resolu es e os desvios padrão relativo.

Após confirmação que o sistema cromatográfico se encontra apto para análise, inicia-se a segunda corrida com a sequência de solução padrão contaminada de cada pico, solução amostra e solução amostra contaminada. Registrar os cromatogramas e medir as respostas dos picos principais. Para esse ensaio, os compêndios oficiais sugerem utilizar os parâmetros operacionais da coluna 3 da tabela 3 para melhor sensibilidade ao método.

Avaliação

Os Requisitos para avaliação da adequabilidade do sistema do procedimento C das Solução padrão da classe 1, a solução de adequabilidade do sistema classe 1 e a solução padrão A da classe 2 são as mesmas do procedimento A ou B:

De acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª ed., relação sinal/ruído do pico 1,1,1-tricloroetano, na solução padrão da classe 1, é de no mínimo 5, a relação sinal/ruído de cada pico, na solução adequabilidade do sistema da classe 1, é de no mínimo 3 e a resolução R entre os picos de acetonitrila e cloreto de metileno, na solução A da classe 2, é de no mínimo 1. Já na Farmacopeia Americana (USP 467), a relação sinal/ ruído será de acordo com os parâmetros do procedimento A ou B escolhido para realizar o procedimento C.

Para a Farmacopeia Americana (USP 467), a relação sinal/ ruído será de acordo com os parâmetros do procedimento A ou B escolhido para realizar o procedimento C para as soluções gerais.

Procedimento A escolhido: A relação sinal/ ruído para qualquer solvente encontrado é de 10, exceto para 1,1,1-tricloroetano que é 5. Para qualquer outro solvente da classe 1 é 3. Se houver mais de um solvente, a resolução entre um pico de interesse e qualquer pico adjacente é 1,0.

Procedimento B escolhido: A relação sinal/ ruído para qualquer solvente encontrado é de 10, exceto para benzeno que é 5. Para qualquer outro solvente da classe 1 é 3. Se houver mais de um solvente, a resolução entre um pico de interesse e qualquer pico adjacente é 1,0.

Cálculo quantitativo

Calcular a quantidade, em ppm, de cada solvente residual encontrado no material em teste, de acordo com a equação a seguir:

$$\text{Conc. (ppm)} = 10(C/M)[rSA/(rSAC - rSA)]$$

Onde:

C= Concentração, em µg por ml, da solução padrão estoque de referência (USP)/Caracterizado;

M= Massa, em g, da amostra pesada para preparar a Solução amostra estoque;

rSA= Resposta do pico de cada solvente residual obtida da solução amostra;

rSAC= Resposta do pico de cada solvente residual obtida da solução amostra contaminada com o padrão estoque.

Realizar a mesma avaliação da faixa de trabalho do procedimento C para amostras solúveis em água.

4.3.1.12 Análise de Solventes Residuais da classe 3

O método de perda por dessecação é o método de sugestão para determinação de níveis de solventes residuais da classe 3 com a especificação limite de 50mg /dia no máximo, que corresponde uma concentração de 5000 ppm ou 0,5% na opção 1. Além da perda, a Farmacopeia Brasileira aceita outro método específico em monografias de cada solvente.

Caso o limite do solvente da classe 3 seja superior ao especificado ou o material para análise possui solventes de outras classes, deve ser realizada a identificação e quantificação aplicando um dos procedimentos descritos anteriormente.

4.3.1.13 Teste de Limite dos Solventes Conhecidos - USP 467

Teste para a verificação de limites de solventes conhecidos e de interesse na amostra disponível na Farmacopeia Americana USP 467 utilizado apenas o padrão e amostra. A preparação das soluções deve ser realizada conforme o procedimento escolhido de acordo com a solubilidade da amostra teste. Para esse teste utilizar Substâncias Químicas de referência USP de cada solvente conhecido. É facultativo a escolha do teste limite para os solventes conhecidos, contudo caso a concentração do limite dos solventes esteja na opção 2, realizar o teste quantitativo.

A solução adequabilidade do sistema deve ser preparada de acordo com a solubilidade da amostra em água. Caso a escolha seja o procedimento A, injetar a solução de adequabilidade do sistema, solução padrão e solução amostra no cromatógrafo, registrar os cromatogramas e medir as respostas dos picos identificados de interesse.

Os requisitos de aceitação da adequabilidade do sistema são os mesmos do procedimento A.

Os critérios de aceitação para a amostra, atende aos requisitos do teste, se e somente se, a resposta do pico do solvente de interesse, contido na solução amostra, seja menor comparado com o correspondente na solução padrão.

Caso a escolha seja o procedimento B, injetar a solução adequabilidade, solução padrão, e solução amostra no cromatógrafo, registrar os cromatogramas e medir as respostas para os picos de interesse. Os requisitos de aceitação da adequabilidade do sistema são os mesmos do procedimento B.

Os critérios de aceitação para a amostra, atende aos requisitos do teste, se e somente se, a resposta do pico do solvente de interesse, contido na solução amostra, seja menor comparado com o correspondente na solução padrão.

O procedimento C para o teste limite de quantificação deve proceder conforme o procedimento A ou B escolhido.

4.3.1.14 Validação de método analítico baseada pelo documento RESIDUAL SOLVENTS—VERIFICATION OF COMPENDIAL PROCEDURES AND VALIDATION OF ALTERNATIVE PROCEDURES- 1467 USP para procedimentos compendiais A e B das classes de solventes do tipo 1 e 2.

4.3.1.14.1 *Procedimento Limite: Procedimento A e Procedimento B*

Verificação quando os solventes com probabilidade de estar presentes e não são conhecidos:

Preparação das soluções

Proceder conforme a escolha dos procedimentos A ou B descritos na USP 1467, para amostras solúveis ou insolúveis em água. Contudo, o procedimento B é mais indicado para teste de confirmação. As soluções solicitadas para o teste limite são: solução branco- diluente, solução padrão e a solução amostra enriquecida, que está por sua vez, deve ser preparada conforme descrito na solução adequabilidade do sistema classe 1. A solução química de referência padrão misto USP deve ser utilizada para preparar a solução padrão, uma vez que existe a probabilidade de estar presente, mas não são conhecidos.

Crítérios de aceitação

- Especificidade: O Branco é injetado para garantir a ausência de interferência significativa. O procedimento A deve ser capaz de separar acetonitrila e cloreto de metileno numa resolução de 1,0. Caso a escolha for o procedimento B, ele deve ser capaz de separar acetonitrila e cis-dicloroetano numa resolução de 1,0.
- Limite de Detecção: Para qualquer procedimento, a relação sinal-ruído média para cada solvente na solução padrão e na solução de amostra enriquecida é de 3,0.
- Estabilidade da Solução: O limite de detecção deve atender aos requisitos durante todo o período de teste.

Verificação quando os solventes com probabilidade de estar presentes e são conhecidos:

Preparação das soluções

Para a preparação da solução branco e padrão, proceder conforme o procedimento A, porém utilizando apenas os solventes conhecidos. Pode-se utilizar tanto a solução de referência USP individual ou solução química de referência caracterizada de cada solvente, uma vez que existe a probabilidade de estar presente e são conhecidos. Já para solução amostra enriquecida, proceder a preparação conforme o procedimento quantitativo tipo C.

Crítérios de aceitação

- Especificidade: O Branco- diluente é injetado para garantir a ausência de interferência significativa com nenhum dos picos que podem estar presentes.
- O procedimento deve ser capaz de separar cada um dos solventes entre si na solução padrão e na amostra enriquecida com uma resolução de 1.0. Caso a análise não atenda a resolução acima, o procedimento B deve ser realizado para confirmação.
- Limite de Detecção: A relação sinal-ruído média para cada solvente na solução padrão e na solução de amostra enriquecida é de 3.0.
- Estabilidade da Solução: O limite quantificação deve atender aos requisitos durante todo o período de teste.

4.3.1.14.2 Procedimentos Quantitativos: Procedimento C

Os solventes residuais já são conhecidos neste procedimento, com base nos resultados dos procedimentos A e B realizados anteriormente. Os parâmetros analisados são especificidade, precisão, repetibilidade, limite de quantificação, faixa de trabalho e estabilidade da solução.

Preparação das soluções

Proceder conforme o procedimento C no preparo das soluções. A solução padrão deve conter concentrações numa concentração de 50% a 150% dos solventes residuais individualmente que foram encontrados no procedimento A, e confirmados no procedimento B. O procedimento deve conter as soluções amostra estoque, amostra enriquecida 1 e amostra enriquecida 2. Logo, a segunda solução deve ser enriquecida com a solução padrão estoque de cada solvente residual identificado e confirmado, e a última, deve possuir a matriz da amostra enriquecida com cada solvente residual identificado e confirmado anteriormente, numa resolução de nível 3.0.

Critérios de aceitação

- Especificidade: O Branco é injetado para garantir a ausência de interferência significativa com nenhum dos picos que podem estar presentes.
- O procedimento deve ser capaz de separar cada um dos solventes da solução padrão entre si e na solução amostra enriquecida com uma resolução de 1.0. Caso os solventes não forem separados nesta resolução, deve-se realizar o procedimento B para a confirmação.
- Limite de Quantificação: A relação sinal-ruído média para cada solvente na solução padrão e na solução de amostra enriquecida é 10. O limite de quantificação pode ser demonstrado pela exatidão e precisão.
- Precisão: A recuperação média da solução amostra enriquecida 2 é de 80% a 120% da concentração teórica esperada, quando comparada com a solução amostra enriquecida 1.
- Precisão/ Repetibilidade: Deve-se preparar seis soluções amostras enriquecidas independentes do tipo 1 do mesmo lote ou nove soluções amostra enriquecidas independentes do tipo 2. O desvio padrão relativo é 20% para cada solvente presente.
- Estabilidade da Solução: Demonstrar a estabilidade aceitável da solução durante todo o período de teste.

Validação de procedimentos alternativos

Procedimento Limite: Proceder conforme a verificação do procedimento C.

Procedimento Quantitativo: As características analíticas a serem validadas são especificidade, linearidade e faixa, limite de quantificação, exatidão, repetibilidade, precisão intermediária e estabilidade da solução. O preparo das amostras é a solução branco e solução amostra enriquecida 2, que deve obter uma resolução de nível 5.0 para cada solvente identificado e confirmado.

Critérios de aceitação

- **Especificidade:** O procedimento analítico deve ter a capacidade de avaliar inequivocamente os analitos de interesse na presença dos componentes que se espera estarem presentes.
- **Linearidade e faixa:** Realizar a análise de regressão linear nos resultados para soluções de amostra com adição de cada solvente conhecido. O coeficiente de determinação r é 0,9.
- **Limite de Quantificação:** A relação sinal-ruído média para cada solvente na solução padrão e na solução de amostra enriquecida é 10. Ou o limite de quantificação pode ser demonstrado pela exatidão e precisão.
- **Precisão:** A recuperação média da solução amostra enriquecida é de 80% a 120%.
- **Precisão/ Repetibilidade:** Preparar pelo menos seis preparações independentes de soluções de amostras enriquecidas do mesmo lote. O desvio padrão relativo é 20% para cada solvente presente.
- **Precisão/ Precisão intermediária:** Realizar a análise de precisão/ repetibilidade em dias diferentes, e/ ou utilizando equipamentos diferentes e/ou analistas diferentes. O teste deve demonstrar que o método está adequado para o uso.
- **Estabilidade da Solução:** As soluções padrão e as soluções de amostra enriquecidas devem ser estáveis durante todo o período de teste, com uma variação de desvio padrão de 20%.

Os solventes residuais são compostos voláteis encontrados em diversos produtos farmacêuticos devido a importância da utilização de solventes orgânicos durante o processo de fabricação. Para tanto, a concentração desses compostos é monitorada rigorosamente pelos órgãos fiscalizadores com a finalidade de certificar a comercialização de medicamentos sem causar nenhum risco à saúde humana durante a farmacoterapia.

O ICH possui diretrizes, utilizadas internacionalmente, capazes de classificar os solventes residuais em classes do tipo 1, 2 e 3 de acordo com o seu risco à exposição diária. Os solventes da classe 1 são os que precisam ser evitados na fabricação de IFA, excipientes ou produtos acabados, devido à alta toxicidade e aos efeitos ambientais nocivos desses compostos. Já os da classe 2, possuem um limite de exposição aceitável e o da classe 3 são os mais indicados devido ao seu baixo nível de toxicidade aguda.

Com isso, a farmacopeia brasileira 6ed^o e a USP possuem metodologias analíticas, consideradas genéricas e universais, para a determinação de solventes residuais em medicamentos associado às diretrizes do ICH. O método serve como base para iniciar um desenvolvimento de método analítico capaz de identificar e quantificar as impurezas orgânicas voláteis, conhecidas e desconhecidas, de materiais solúveis ou insolúveis em água, utilizando a técnica de cromatografia gasosa.

Os fabricantes dos medicamentos, tendo como base a metodologia dos compêndios oficiais farmacêuticos, pode desenvolver o seu próprio método de acordo com as necessidades da empresa, sendo necessário à validação do mesmo para confirmação da sua efetividade, precisão, robustez e eficácia. Então, o guia farmacêutico desenvolvido serve como documento base para elaboração de protocolos para análise de solventes residuais utilizando a técnica de cromatografia gasosa, sendo mais um documento importante para a garantia da qualidade exercer as boas práticas de fabricação nas indústrias farmacêuticas.

5 ARTIGO 2: PROTOCOLO PARA A DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA A DETERMINAÇÃO DOS SOLVENTES RESIDUAIS ETANOL, DICLOROMETANO E ACETATO DE ETILA EM AMOSTRAS DO IFA DAPSONA: UM ESTUDO DE CASO.

5.1 INTRODUÇÃO

A dapsona é um fármaco utilizado no tratamento padrão da hanseníase como uma poliquimioterapia juntos com os fármacos rifampicina e clofazimina. A ocorrência de efeitos adversos dos fármacos provoca uma barreira para sucesso do esquema terapêutico seguindo do abandono do tratamento, sendo a identificação dos efeitos indesejados uma grande preocupação para OMS (Araujo *et al.*, 2024).

Esses efeitos podem ser provenientes do desvio da qualidade dos medicamentos durante sua fabricação. Isso pode ser proveniente da preferência do uso de solventes orgânicos como veículo na síntese desses produtos devido a sua facilidade na afinidade e solubilidade com vários compostos orgânicos (USP 467, 2023; Hajipour, 2024).

Porém, o uso desses solventes orgânicos resulta na produção de impurezas orgânicas voláteis que não são eliminados totalmente dos medicamentos e podem provocar sérios riscos à saúde humana. Para evitar os efeitos adversos provenientes do desvio da qualidade, as indústrias farmacêuticas monitoram essas substâncias por meio de métodos analíticos cromatográficos (ICH Q3C(R8), 2022; Farmacopeia Brasileira 6^a ed., 2024; USP 467, 2023).

O etanol, diclorometano e acetato de etila são os solventes residuais que podem ser encontrados na dapsona durante sua rota de síntese. Todos são liberados pelos órgãos fiscalizadores, porém com um limite de exposição diária permitida. O diclorometano tem a limite de exposição diária permitida de até 600ppm. Já o etanol e acetato de etila são classificados como solventes de menos ricos podendo ser aceitáveis limites de até 5000ppm (Farmacopeia Brasileira 6^a ed., 2024)

Então, o controle de qualidade precisa monitorar esses solventes residuais produzidos durante a rota de síntese da dapsona para evitar intoxicação medicamentosa devido ao devido da qualidade do produto final. Para tanto, o guia desenvolvido serve como documento para garantia da qualidade promover as boas práticas de fabricação de medicamentos.

Sendo assim, o protocolo teve como objetivo promover a aplicabilidade do guia farmacêutico através do desenvolvimento de um método analítico capaz quantificar os solventes residuais etanol, diclorometano e acetato de etila da IFA do fármaco dapsona nas instalações do LAFEPE.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia foi baseada no guia farmacêutico para o desenvolvimento de métodos analíticos para a identificação e quantificação de impurezas orgânicas voláteis e/ou solventes residuais em produtos farmacêuticos. A elaboração foi construída de acordo com os procedimentos alternativos do guia em conjunto com a informação do DMF do fabricante das características do fármaco, além dos possíveis solventes residuais conhecidos devido durante a sua rota de síntese. A metodologia foi adaptada as condições oferecidas pelo LAFEPE para as análises de solventes residuais utilizando a técnica de cromatografia gasosa, além dos recursos laboratoriais para tal análise.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Protocolo de desenvolvimento de método analítico para quantificação de solventes residuais em dapsona – Insumo Farmacêutico Ativo (IFA)

5.3.1.1 Objetivo

Este documento tem como objetivo desenvolver um método analítico para identificar e quantificar os solventes residuais Etanol, Diclorometano e acetato de Etila presentes na amostra de IFA da Dapsona de acordo com o guia farmacêutico para análise de solventes residuais desenvolvido para o LAFEPE.

5.3.1.2 Materiais e equipamentos

5.3.1.2.1 Equipamentos e instrumentos utilizados

- Cromatógrafo gasoso Agilent 8860 acoplado ao *headspace*;
- Balança analítica;
- Pipetador HandyStep;
- Vials para cromatografia Gasosa com tampas e septos;
- Coluna cromatográfica DB-640 (30m x 0,53mm x 3 µm) para amostras solúveis em água.

5.3.1.2.2 Substância Química de Referência Caracterizada e Reagente

Substância Química de Referência/ Caracterizada

- Padrão de Referência Caracterizado Acetato de Etila;
- Padrão de Referência Caracterizado de Diclorometano;
- Padrão de Referência Caracterizado de Etanol;

Reagentes

- DMSO

Condições Analíticas

Especificações:

- Classe 3: Acetato de Etila: 5000 ppm;
- Classe 2: Diclorometano: 600ppm;
- Classe 3: Etanol : 5000 ppm.

Densidade:

- Acetato de Etila: 0,902 g/ml.
- Diclorometano: 1,3255 g/ml.
- Etanol: 0,7890 g/ml.

5.3.1.2.3 Condições Cromatográficas

O quadro 16 possuem as condições cromatográficas adaptadas para análise da Dapsona.

Quadro 16 – Procedimento A - Condições cromatográficas do protocolo Dapsona.

CARACTERÍSTICAS	DESCRIÇÃO
Técnica	Cromatografia Gasosa
Detector	FID
Coluna	DB-640 (30m x 0,53mm x 3 µm)
Gás de arraste	Nitrogênio
Fluxo	1,0 ml/ min
Sistema de injeção	Headspace
Split CG	(10:1)*
Tempo de análise	35,5 min
Temperatura do injetor	200°C
Temperatura do detector	220°C

* A relação de partição pode ser modificada para otimizar a sensibilidade.

Fonte: Próprio da Autora

O quadro 17 possui a rampa de aquecimento para análise da dapsona.

Quadro 17 – Rampa de aquecimento do protocolo Dapsona.

Temperatura Inicial (°)	Temperatura rampa (°/min)	Temperatura final (°)	Tempo de espera (min)
0°C	0°C	35°C	12
35°C	20°C	185°C	7,5
185°C	0	185°C	16

Fonte: Próprio da Autora

5.3.1.2.4 Condições Headspace

O quadro 18, mostra as condições operacionais do headspace do protocolo da dapsona.

Quadro 18 – Parâmetros operacionais para o Headspace para o protocolo da Dapsona.

CARACTERÍSTICAS	DESCRIÇÃO
Temperatura de incubação	80°C
Tempo de incubação	30 min
Temperatura da seringa	90 °C
Volume da Amostra	1 ml
Tempo de Ciclo CG	40 min

Fonte: Próprio da Autora

5.3.1.3 Procedimentos

5.3.1.3.1 Preparo de soluções

Solução padrão estoque

Em um balão volumétrico de 25ml, transferir aproximadamente cerca de 20 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) e adicionar 138,6µL do Padrão Caracterizado de Acetato de Etila, 11,3µL do Padrão Caracterizado de Diclorometano e 158,42µL do Padrão Caracterizado de Etanol. Completar o volume com o DMSO e homogeneizar. (Concentrações iniciais: 5000 ppm Acetato de etila, 600 ppm Diclorometano e 5000 ppm de Etanol)

Solução padrão

Em um vial de headspace de 20 ml, transferir 5 ml de DMSO e 300µL da solução padrão estoque. (Concentrações finais: 283,01 ppm Acetato de etila, 33,96 ppm Diclorometano e 283,01 ppm de Etanol)

Solução Branco e Limpeza

Em um vial de headspace de 20 ml, transferir 2 ml de DMSO.

Solução Amostra

Em um vial de headspace de 20 ml, transferir 5 ml de DMSO e 300µL de matéria prima Dapsona.

Solução Amostra Enriquecida

Em um vial de headspace de 20 ml, transferir 5 ml de DMSO, 300µL de matéria prima Dapsona e 300µL da solução padrão estoque.

Solução Adequabilidade do Sistema

Preparar 6 vials de headspace de 20 ml contendo 5 ml de DMSO e 300µL da solução padrão estoque.

5.3.1.3.2 Ensaios

Ativar o sistema cromatográfico e deixar a coluna condicionando a temperatura de 200°C durante 10 minutos para estabilizar a linha de base. Depois, retornar à temperatura inicial do método (35°C) e deixar condicionando com as condições cromatográficas do método durante um tempo mínimo de 30 minutos. Na sequência, iniciar a corrida injetando os vials respeitando a sequência da corrida.

Injetar no cromatógrafo gasoso 1 vial da solução branco, 1 vial de cada solução de identificação, intercalando vials da solução branco, 3 vials da solução padrão, 6

vials da solução de adequabilidade do sistema, 1 vial do branco, 3 vials da solução amostra, 1 vial da solução branco e 3 vials da solução amostra sintética. Respeitar a sequência da corrida.

Registrar os cromatogramas e depois avaliar os desvios padrão relativo do padrão, os parâmetros de relação sinal/ruído dos picos e medir as respostas dos principais.

5.3.1.3.3 Avaliações

Avaliação baseada nos parâmetros de validação da RDC nº 166, Validação de método analítico baseada pelo documento *Residual solvents—verification of compendial procedures and validation of alternative procedures- 1467 USP* e ICH Q3C(R8).

USP 1467:

- A relação sinal/ruído para solventes residuais na solução padrão amostra enriquecida deve ter três medições de uma única preparação é de NLT 10;
- Estabilidade da solução: As soluções padrão e as soluções de amostra enriquecidas devem ser estáveis durante todo o período de teste.
- DPR: O desvio padrão relativo é NMT 20% para cada solvente presente.
- Recuperação: A recuperação média para cada solução de amostra enriquecida deve ser de 80% a 120%.

Cálculo do DPR:

$$DPR: (DP/CMD) \times 100;$$

Onde:

DPR = Desvio padrão relativo;

DP = Desvio padrão;

CMD = Concentração média determinada.

Cálculo Quantitativo

Calcular as concentrações, em ppm, de cada solvente residual encontrado no material em teste, de acordo com a equação a seguir:

$$SR(ppm): (A_{amE}/A_p) * (C_{pc}/C_{amE} - C_{am})$$

Onde:

SR = Concentração, em µg por ml, do solvente residual em g da amostra.

A_{amE} = Área da amostra enriquecida;

A_p = Área do Padrão;

C_{pc} = Concentração do Padrão Corrigido em µg/ml;

C_{amE} = Concentração da Amostra Enriquecida em g/ml;

C_{am} = Concentração da Amostra g/ml.

5.3.2 Resultados e discussão

O procedimento foi baseado no capítulo de determinação de Solventes Residuais da Farmacopeia Brasileira 6ª ed. e no *Residual Solvents – Verification of Compedial Procedures and Validation of Alternative Procedures*, USP 42 <1467, que são úteis para a identificação, controle e quantificação de impurezas orgânicas voláteis em insumos e produtos farmacêuticos. Foi necessário realizar algumas adaptações conforme as condições operacionais do LAFEPE.

A possibilidade de encontrar os solventes residuais Etanol, Diclorometano e Acetato de Etila na amostra da Dapsona foram informados no DMF do fabricante. As suas especificações são iguais aos dos compêndios oficiais farmacêuticos e do ICH Q3C (R8). As concentrações iniciais e finais foram calculadas de acordo com as especificações de cada solvente residual, a sua densidade e o volume da diluição escolhida.

Cálculo das concentrações dos solventes residuais Etanol, Diclorometano e Acetato de Etila:

Densidade Acetato de Etila: 0,902 g/ml.

Especificação: 5000 ppm (ICH Q3C (R8))

$$0,902 \cdot V_i = 0,005 \cdot 25$$

$$V_i = 138,6 \mu l$$

Densidade Diclorometano: 1,3255 g/ml.

Especificação: 600 ppm (ICH Q3C (R8))

$$1,3255 \cdot V_i = 0,0006 \cdot 25$$

$$V_i = 11,3 \mu l$$

Densidade Etanol: 0,7890 g/ml.

Especificação: 5000 ppm (ICH Q3C (R8))

$$0,7890 \cdot V_i = 0,005 \cdot 25$$

$$V_i = 158,42 \mu l$$

As soluções padrões foram preparadas com padrões conhecidos e caracterizados oferecidos pelo LAFEPE. Todos possuem laudo de técnico de caracterização. O DMSO é um reagente bastante utilizado na preparação das soluções para análises em cromatografia gasosa no LAFEPE. O mesmo foi utilizado como diluente no protocolo da dapsona devido a excelente solubilidade.

O equipamento utilizado para as análises foi o cromatógrafo da marca Agilent 8860 acoplado ao Headspace, além de uma balança analítica três casas decimais de marca Shimadzu para a determinação das massas e pipetador automático devido a sensibilidade do CG. De acordo com a DMF da dapsona, o fármaco tem boa solubilidade em água. Então, a coluna escolhida foi DB-640 (30m x 0,53mm x 3 μ m) sugerida pela Farmacopeia Brasileira e UPS467 para amostras solúveis em água.

As condições cromatográficas e do *Headspace* foram adaptadas conforme as orientações do fabricante do equipamento CG, descrito no manual da Agilent, em associação com os parâmetros dos compêndios oficiais citados nos documentos relacionados. Esses parâmetros operacionais são fundamentais para a sensibilidade do sistema, sendo necessário realizar ajustes finos.

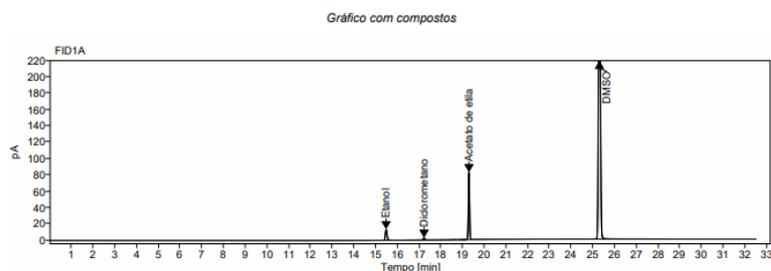
O nitrogênio foi o gás de arraste escolhido para as análises de CG da Dapsona, porém a equipe técnica pode escolher entre o hélio ou nitrogênio de acordo com o método definido. O detector ideal para a otimização das análises no laboratório é o FID com o *headspace* acoplado no cromatógrafo, contudo o DEM pode ser utilizado, porém a sugestão é para investigação das impurezas contida na amostra.

O tempo de análise foi de 35,5 minutos para cada corrida com mais 30 minutos de encubação de cada vial no Headspace, totalizado mais de uma hora para cada análise. Esse tempo de análise foi ideal para certificar o aparecimento dos três picos de solventes residuais e o pico do diluente na amostra de dapsona.

A figura 21 representa o cromatógrafo gasoso com os picos dos solventes residuais etanol, diclorometano e acetato de etila da solução padrão da dapsona:

Figura 21 – Cromatógrafo Gasoso da Solução Padrão dos solventes residuais da Dapsona.

Ensaio: 20240223_162959.dx padrao 2
 Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
 Pasta Destino: D:\CDSP\Projects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rslt
 Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 16:37:37 TAG Instrumento: 32CMG002-02 Analista: Daniel da Mota Castelo Branco



Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	Pratos Teóricos	Resolução
Etanol	15,46	72	283	192842	
Diclorometano	17,21	12	34	343077	13,53
Acetato de etila	19,28	316	286	569557	18,83
DMSO	25,29	2479		481774	48,44

Fonte: Próprio da Autora

A corrida da dapsona foi utilizada seis vials da solução adequabilidade do sistema devido o desvio padrão relativo apresentarem um valor acima de 2%, sendo indicativo da farmacopeia brasileira 6^oed. Esse valor é aceitável em testes de impurezas, uma vez que a sua precisão é não mais de 20%. (USP 467, 2023)

O método mostrou-se reprodutível e estável nas seis soluções da adequabilidade do sistema analisadas inicialmente, sendo característico de um

sistema totalmente funcional e aplicável para a determinação dos solventes residuais da Dapsona.

O tempo de retenção do etanol foi de aproximadamente 15 minutos, o diclorometano em 17 minutos e o acetato de etila aos 19 minutos, mantendo estáveis durante toda a corrida. Os tempos foram confirmados com testes de soluções de identificações de cada solvente residual separadamente.

As simetrias dos picos foram observadas em todas as soluções, além de pratos teóricos e a resolução dos picos com valores elevados e estáveis durante toda a corrida, sendo indicativo de eficiência do sistema e da coluna cromatográfica. As soluções apresentaram valores de sinais ruídos acima de 10, sendo observado um método seletivo para análises de solventes residuais da dapsona.

Os picos dos três solventes residuais foram detectados em todas as amostras contidas na corrida, exceto na solução amostra que somente foi detectado o solvente do diluente. Essa ausência pode ser uma eliminação total das impurezas na etapa final da sua síntese. Por isso da necessidade de avaliar amostras enriquecidas com concentrações conhecidas dos solventes residuais nas soluções amostras sintéticas nos testes de impurezas (RDC 166 de 24 de julho de 2017)

A tabela 1 a seguir mostra os resultados da média, DP e DPR dos solventes residuais das seis amostras da solução adequabilidade do sistema.

Tabela 1 – Resultados da média, DP e DPR das seis soluções adequabilidade do sistema.

Adequabilidade do Sistema	Etanol	Diclorometano	Acetato de Etila
AD 1	294	37	307
AD 2	290	36	302
AD 3	287	35	299
AD 4	287	35	298
AD 5	291	35	299
AD 6	293	35	295
Média	291	35	100,8
Desvio Padrão	2,5	0,7	3,5
DPR%	0,85	2,08	1,64

Fonte: Próprio da Autora

O desvio padrão relativo do solvente residual Etanol das seis amostras de adequabilidade do sistema foi 0,85%. Já os solventes residuais diclorometano e acetato de etila nas mesmas amostras obteve um DPR 2,08% e 1,64, respectivamente. Todos os resultados foram abaixo de 20% do especificado na USP 467, confirmado estabilidade das soluções.

As réplicas das soluções Padrões foram precisas para análises de impurezas da Dapsona com valores menores que 20%, como mostra a tabela 2 a seguir:

Tabela 2 – Resultados da média, DP e DPR das soluções padrão.

Padrão	Etanol	Diclorometano	Acetato de Etila
P1	286	35	292
P2	283	34	286
P3	276	33	271
Média	283	34	286
Desvio Padrão	5	1	11
DPR%	1,81	2,94	3,78

Fonte: Próprio da Autora

As concentrações reais de cada solvente residual da Dapsona foram bastante próximas da teórica, mesmo com os resultados da terceira solução padrão abaixo do esperado. Essa diferença pode ser característica de erro analítico. As soluções amostras enriquecidas apresentaram um desvio padrão abaixo de 20% e uma recuperação acima de 85%. O método mostrou-se mais uma vez adequado, eficaz e confiável para determinar e quantificar os solventes residuais da dapsona, uma vez que para testes de impurezas as recuperações são aceitáveis entre 80% a 120 % (USP 467, 2023).

Os quadros 19 e 20 mostram os resultados das concentrações e recuperação dos solventes residuais das soluções amostras enriquecidas.

Quadro 19 – Concentrações dos solventes residuais das soluções amostras enriquecidas do protocolo da dapsona.

Solvente	Amostra Enriquecida 1	Amostra Enriquecida 2	Amostra Enriquecida 3
Etanol	282,95	285,84	283,62
Diclorometano	29,58	30,12	29,71
Acetato de etila	240,82	242,86	241,95

Fonte: Próprio da Autora

Quadro 20 – Valores da Recuperação dos solventes residuais das soluções amostras enriquecidas.

Solvente	Amostra Enriquecida 1	Amostra Enriquecida 2	Amostra Enriquecida 3
Etanol	100,41	101,44	100,65
Diclorometano	87,15	88,75	87,53
Acetato de etila	85,13	85,86	85,53

Fonte: Próprio da Autora

Os valores dos solventes diclorometano e acetato de etila apresentaram um pouco distante dos valores desejados. Isso pode ser decorrente da complexidade e de elevada diversidade de componentes da amostra, sendo sugestivo de um estudo de avaliação do efeito matriz via método de adição de padrão interno no método da dapsona (Nascimento et al., 2018).

6 CONCLUSÃO

O desenvolvimento do protocolo da dapsona como estudo de caso foi fundamental na aplicabilidade do guia farmacêutico de desenvolvimento de método analítico para análises de solventes residuais. O protocolo construído teve como base o procedimento de métodos alternativos e o procedimento C para solventes residuais presentes na amostra.

A estabilidade das soluções manteve estáveis durante a corrida com o desvio padrão de cada solvente residual abaixo de 20%. Todas as soluções apresentaram picos simétricos, a resolução e pratos teóricos com valores mantidos e altos, sendo característico de sistema e coluna eficiente para o método desenvolvido. A seletividade do método foi observada através dos valores do parâmetro sinal/ruído que foram maiores que 10.

As soluções amostras não apresentaram picos de solventes residuais devido a eliminação dos mesmos na etapa final da sua síntese, mas foram observados picos bem definidos nas soluções amostras enriquecidas com padrão de cada solvente, observado a especificidade do método.

O método desenvolvido para dapsona mostrou -se reprodutível e estável durante toda corrida, mesmo com os níveis de recuperação dos solventes residuais diclorometano e acetato de etila mais baixos. Isso pode ser característico da alteração dos valores solventes residuais devido à complexidade da amostra, sendo sugestivo um estudo de efeito matriz com a adição de padrão interno nas soluções do método dapsona.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O monitoramento dos solventes residuais é considerado essencial como boas práticas de fabricação dos medicamentos para garantir produtos sem desvio da qualidade, seguros e eficazes, obtendo assim uma redução nos casos de intoxicação medicamentosa com sucessos nos tratamentos terapêuticos. Para tanto, o guia farmacêutico elaborado mostrou-se importante como documento base da garantia da qualidade na determinação de métodos analíticos em análises de solventes residuais utilizando a técnica de cromatografia gasosa. A sua aplicabilidade foi avaliada através do estudo de caso do protocolo da dapsona com resultados satisfatórios do método alternativo desenvolvido, mostrando uma reprodutibilidade e especificidade do mesmo, além de um sistema e soluções estáveis. Para tanto, a validação do método precisa ser desenvolvida para demonstrar a confiabilidade dos resultados obtidos.

REFERÊNCIAS

Artigo 1

ALELUIA, Augusto Cezar Magalhães et al. Analytical approach of elemental impurities in pharmaceutical products: a worldwide review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, p. 106689, 2023.

Agilent. Manual de Operações: Agilent 8860 Cromatógrafo a Gás. 2019

KUMAR, Anuj; SHARMA, Chhaya. Recent update of the various sources originating ghost peaks in gas chromatography: A review. **Journal of Chromatography A**, v. 1685, p. 463625, 2022.

ANVISA. 16/07/2019 16:50. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/produtos-irregulares-o-que-sao-e-como-identificalos>; 14/04/2024 as 09:22.

ANVISA. 03/11/2022 14h41. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2018/anvisa-e-novo-membro-do-ich>; 14/04/2024 as 10:43.

ANVISA. 17/05/2022 14h38. Disponível em : <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/aceessoainformacao/perguntasfrequentes/farmacopeia/farmacopeia-1>; 15/04/2024 as 08:38.

ALSaeedy M, Al-Adhreai A, Öncü-Kaya EM, Şener E. An Overview of Advances in the Chromatography of Drugs Impurity Profiling. *Crit Rev Anal Chem*. 2022 Feb 18:1-17. Epub ahead of print. PMID: 35180027.

AOAC: ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL. Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements p-9, 2016

ASLANI, Saba; ARMSTRONG, Daniel W. High information spectroscopic detection techniques for gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1676, p. 463255, 2022.

ASPROMONTE, Juan; WOLFS, Kris; ADAMS, Erwin. Full evaporation headspace gas chromatography with thermal conductivity detection for the direct determination of water in solid pharmaceutical bulk products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 208, p. 114440, 2022.

BERNARDONI, Frank et al. Generic gas chromatography flame ionization detection method using hydrogen as the carrier gas for the analysis of solvents in pharmaceuticals. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 165, p. 366-373, 2019.

“BRASIL”. Lei nº 5.991, de 17 de dezembro de 1973. Dispõe sobre o Controle Sanitário do Comércio de Drogas, Medicamentos, Insumos Farmacêuticos e Correlatos, e dá outras Providências, 1973.

“BRASIL”. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lei de nº 9.782 de 26 de janeiro de 1999.

“BRASIL”. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº 53, DE 4 DE DEZEMBRO DE 2015

“BRASIL”. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC de nº 166, de 24 de julho de 2017.

“BRASIL”. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 406, DE 22 DE JULHO DE 2020

“BRASIL”. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC de nº 658 de 30 de março de 2022.

“BRASIL”. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC de nº 753, de 28 de setembro de 2022

“BRASIL”. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Guia de Validação e Controle de Qualidade Analítica. Fármacos em Produtos para Alimentação Animal e Medicamentos Veterinários. 1º ed; 2011.

BIZZO, Humberto R. et al. Use and abuse of retention indices in gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, p. 464376, 2023.

CHENG, Chang et al. A generic static headspace gas chromatography method for determination of residual solvents in drug substance. *Journal of Chromatography A*, v. 1217, n. 41, p. 6413-6421, 2010.

COLANGELO, Julia Facci et al. Determinação de impurezas elementares em amostras autênticas e apreendidas de comprimidos contendo sildenafil e tadalafila. 2023.

DUARTE, Fernanda Gross et al. Óbitos e internações decorrentes de intoxicações por medicamentos com prescrição e isentos de prescrição, no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 55, p. 81, 2021. *Farmacopeia Brasileira*. 6ºed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, v. 1.2021.

Farmacopeia Brasileira. 6ºed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, v. 1.2024.

FERRO, Sara Almeida. Validação de Métodos Cromatográficos para a Análise de Medicamentos. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de Aveiro (Portugal).

FIORENTIN, Anderson Luiz et al. Validação de metodologia analítica para análise de solventes residuais na matéria prima indapamida por cromatografia gasosa. 2021.

HAIPOUR, Somaye; GHIASVAND, Alireza. Development of a novel ultrasound Vacuum-assisted headspace solid phase microextraction approach for determination of solvent residual's in pharmaceuticals and comparison with traditional headspace solid phase microextraction method. Available at SSRN 4509104, 2024.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH), GUIDELINE FOR ELEMENTAL IMPURITIES Q3D(R1), março de 2019.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH), IMPURITIES IN NEW DRUG SUBSTANCES Q3A(R2), outubro de 2006.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH), Impurities: Guiderline for Residual Solvents. Q3C (R8), agosto. 2022.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH), VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY Q2(R1), 2005.

JÓSZAI, István et al. A generic gas chromatography method for determination of residual solvents in PET radiopharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 207, p. 114425, 2022.

KAY, Jacob et al. Simultaneous quantitation of water and residual solvents in pharmaceuticals by rapid headspace gas chromatography with thermal conductivity detection (GC-TCD). ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***, v. 194, p. 113796, 2021.

Lencastre, Mariana. Controle da qualidade na indústria farmacêutica e biofarmacêutica. Dissertação de mestrado. Setembro 2023.

KAY, Jacob et al. Simultaneous quantitation of water and residual solvents in pharmaceuticals by rapid headspace gas chromatography with thermal conductivity detection (GC-TCD). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 194, p. 113796, 2021.

GAIDA, Meriem; STEFANUTO, Pierre-Hugues; FOCANT, Jean-François. Theoretical modeling and machine learning-based data processing workflows in comprehensive two-dimensional gas chromatography—A review. ***Journal of Chromatography A***, v. 1711, p. 464467, 2023.

MACHADO, Eliane dos Santos et al. Análise comparativa das metodologias para pesquisa e controle de produtos de degradação em insumos farmacêuticos ativos e produtos sólidos orais de uma indústria estatal farmacêutica de grande porte situada no Rio de Janeiro. 2011.

MACHADO, Patrícia Vieira et al. Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de impurezas orgânicas de dipirona sódica monoidratada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). 2020.

MAZIERO, Maiara et al. Determinação de impurezas elementares por espectrometria de absorção atômica em produtos farmacêuticos utilizados por pacientes com doença renal crônica. 2023. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria.

MAZUMDER, Sonal et al. Influence of residual solvents on the physical properties of transdermal drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 588, p. 119713, 2020.

NASCIMENTO, *et al.* Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos. Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará (UFC). Fortaleza, 2018.

NACHAM, Omprakash et al. Uso de líquidos iônicos como diluentes de cromatografia gasosa headspace para análise de solventes residuais em produtos farmacêuticos. *Jornal de Análise Farmacêutica e Biomédica*, v. 145, p. 879-886, 2017.

VISSOTTO, Juliano Parizotto et al. Otimização de método analítico para determinação de etanol em Succinato de Metoprolol por cromatografia em fase gasosa rápida. 2023.

SANTOS, Monique Silva dos et al. O impacto da 5ª edição da farmacopeia brasileira: o ensaio de dissolução de comprimidos de Hidroclorotiazida 25mg. 2013.

VOJVODIĆ, Slađana; ČONIĆ, Branislava Srđenović; TOROVIĆ, Ljilja. Safety assessment of herbal food supplements: Ethanol and residual solvents associated risk. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 122, p. 105483, 2023.

de Andrade, Bárbara Mikaela, Maria Carolina Gomes de Lima, and Thalita Lauanna Gonçalves da Silva Ferreira. "A IMPORTÂNCIA DA FARMACOVIGILÂNCIA E DETECÇÃO DE REAÇÕES ADVERSAS A MEDICAMENTOS (FARMÁCIA)." *Repositório Institucional 2.2* (2024).

SUN, Rong et al. Simultaneous Determination of Nine Residual Solvents in Sorafenib Tosylate by Gas Chromatography. **Journal of AOAC International**, v. 104, n. 4, p. 1005-1009, 2021.

TAYLOR, Colin W.; BOWDEN, Stephen A. What about nitrogen? Using nitrogen as a carrier gas during the analysis of petroleum biomarkers by gas chromatography mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1697, p. 463989, 2023.

United States Pharmacopea, USP. 467 RESUDUAL SOLVENTS.2023

WANG, Dandan et al. Identification of residues in ethylene oxide sterilized hard gelatin capsule shells by gas chromatography-mass spectrometry and development of a simple gas chromatography-flame ionization detector method for the determination of residues. *Journal of Chromatography Open*, v. 2, p. 100061, 2022.

ZOU, Lanfang; GUO, Xun; MCELDERRY, John-David. Platform headspace gas chromatography method for high-throughput determination of residual solvents in

pharmaceutical materials. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, v. 229, p. 115349, 2023.

Artigo 2

Agilent. Manual de Operações: Agilent 8860 Cromatógrafo a Gás. 2019

ARAUJO, Ana Carolina Galvão dos Santos de et al. Development of a multivariate predictive model for dapsone adverse drug events in people with leprosy under standard WHO multidrug therapy. 2024.

AOAC: ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL. Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements p-9, 2016

“BRASIL”. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC de nº 166, de 24 de julho de 2017.

Farmacopeia Brasileira. 6ªed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, v. 1.2024.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH), Impurities: Guiderline for Residual Solvents. Q3C (R8), agosto. 2022.

NASCIMENTO, et al. Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos. Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará (UFC). Fortaleza, 2018.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH), VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY Q2(R1)

United States Pharmacopea, USP. 467 RESUDUAL SOLVENTS.2023

Referências gerais

ALELUIA, Augusto Cezar Magalhães et al. Analytical approach of elemental impurities in pharmaceutical products: a worldwide review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, p. 106689, 2023.

ARAUJO, Ana Carolina Galvão dos Santos de et al. Development of a multivariate predictive model for dapsone adverse drug events in people with leprosy under standard WHO multidrug therapy. 2024.

Agilent. Manual de Operações: Agilent 8860 Cromatógrafo a Gás. 2019

KUMAR, Anuj; SHARMA, Chhaya. Recent update of the various sources originating ghost peaks in gas chromatography: A review. **Journal of Chromatography A**, v. 1685, p. 463625, 2022.

ANVISA. 16/07/2019 16:50. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/produtos-irregulares-o-que-sao-e-como-identificalos>; 14/04/2024 as 09:22.

ANVISA. 03/11/2022 14h41. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2018/anvisa-e-novo-membro-do-ich>; 14/04/2024 as 10:43.

ANVISA. 17/05/2022 14h38. Disponível em : <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoainformacao/perguntasfrequentes/farmacopeia/farmacopeia-1>; 15/04/2024 as 08:38.

ALSaeedy M, Al-Adhreai A, Öncü-Kaya EM, Şener E. An Overview of Advances in the Chromatography of Drugs Impurity Profiling. *Crit Rev Anal Chem*. 2022 Feb 18:1-17. Epub ahead of print. PMID: 35180027.

AOAC: ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL. Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements p-9, 2016

ASLANI, Saba; ARMSTRONG, Daniel W. High information spectroscopic detection techniques for gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1676, p. 463255, 2022.

ASPROMONTE, Juan; WOLFS, Kris; ADAMS, Erwin. Full evaporation headspace gas chromatography with thermal conductivity detection for the direct determination of water in solid pharmaceutical bulk products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 208, p. 114440, 2022.

BERNARDONI, Frank et al. Generic gas chromatography flame ionization detection method using hydrogen as the carrier gas for the analysis of solvents in pharmaceuticals. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 165, p. 366-373, 2019.

“BRASIL”. Lei nº 5.991, de 17 de dezembro de 1973. Dispõe sobre o Controle Sanitário do Comércio de Drogas, Medicamentos, Insumos Farmacêuticos e Correlatos, e dá outras Providências, 1973.

“BRASIL”. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lei de nº 9.782 de 26 de janeiro de 1999.

“BRASIL”. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº 53, DE 4 DE DEZEMBRO DE 2015

“BRASIL”. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC de nº 166, de 24 de julho de 2017.

“BRASIL”. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 406, DE 22 DE JULHO DE 2020

“BRASIL”. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC de nº 658 de 30 de março de 2022.

“BRASIL”. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC de nº 753, de 28 de setembro de 2022

“BRASIL”. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Guia de Validação e Controle de Qualidade Analítica. Fármacos em Produtos para Alimentação Animal e Medicamentos Veterinários. 1º ed; 2011.

BIZZO, Humberto R. et al. Use and abuse of retention indices in gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, p. 464376, 2023.

CHENG, Chang et al. A generic static headspace gas chromatography method for determination of residual solvents in drug substance. *Journal of Chromatography A*, v. 1217, n. 41, p. 6413-6421, 2010.

COLANGELO, Julia Facci et al. Determinação de impurezas elementares em amostras autênticas e apreendidas de comprimidos contendo sildenafil e tadalafila. 2023.

DUARTE, Fernanda Gross et al. Óbitos e internações decorrentes de intoxicações por medicamentos com prescrição e isentos de prescrição, no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 55, p. 81, 2021. Farmacopeia Brasileira. 6ºed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, v. 1.2021.

Farmacopeia Brasileira. 6ºed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, v. 1.2024.

FERRO, Sara Almeida. Validação de Métodos Cromatográficos para a Análise de Medicamentos. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de Aveiro (Portugal).

FIORENTIN, Anderson Luiz et al. Validação de metodologia analítica para análise de solventes residuais na matéria prima indapamida por cromatografia gasosa. 2021.

HAIPOUR, Somaye; GHIASVAND, Alireza. Development of a novel ultrasound Vacuum-assisted headspace solid phase microextraction approach for determination of solvent residual's in pharmaceuticals and comparison with traditional headspace solid phase microextraction method. Available at SSRN 4509104, 2024.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH), GUIDELINE FOR ELEMENTAL IMPURITIES Q3D(R1), março de 2019.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH), IMPURITIES IN NEW DRUG SUBSTANCES Q3A(R2), outubro de 2006.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH), Impurities: Guiderline for Residual Solvents. Q3C (R8), agosto. 2022.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH), VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY Q2(R1), 2005.

JÓSZAI, István et al. A generic gas chromatography method for determination of residual solvents in PET radiopharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 207, p. 114425, 2022.

KAY, Jacob et al. Simultaneous quantitation of water and residual solvents in pharmaceuticals by rapid headspace gas chromatography with thermal conductivity detection (GC-TCD). ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***, v. 194, p. 113796, 2021.

Lencastre, Mariana. Controle da qualidade na indústria farmacêutica e biofarmacêutica. Dissertação de mestrado. Setembro 2023.

KAY, Jacob et al. Simultaneous quantitation of water and residual solvents in pharmaceuticals by rapid headspace gas chromatography with thermal conductivity detection (GC-TCD). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 194, p. 113796, 2021.

GAIDA, Meriem; STEFANUTO, Pierre-Hugues; FOCANT, Jean-François. Theoretical modeling and machine learning-based data processing workflows in comprehensive two-dimensional gas chromatography—A review. ***Journal of Chromatography A***, v. 1711, p. 464467, 2023.

MACHADO, Eliane dos Santos et al. Análise comparativa das metodologias para pesquisa e controle de produtos de degradação em insumos farmacêuticos ativos e produtos sólidos orais de uma indústria estatal farmacêutica de grande porte situada no Rio de Janeiro. 2011.

MACHADO, Patrícia Vieira et al. Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de impurezas orgânicas de dipirona sódica monoidratada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). 2020.

MAZIERO, Maiara et al. Determinação de impurezas elementares por espectrometria de absorção atômica em produtos farmacêuticos utilizados por pacientes com doença renal crônica. 2023. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria.

MAZUMDER, Sonal et al. Influence of residual solvents on the physical properties of transdermal drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 588, p. 119713, 2020.

NASCIMENTO, *et al.* Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos. Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará (UFC). Fortaleza, 2018.

NACHAM, Omprakash et al. Uso de líquidos iônicos como diluentes de cromatografia gasosa headspace para análise de solventes residuais em produtos farmacêuticos. *Jornal de Análise Farmacêutica e Biomédica*, v. 145, p. 879-886, 2017.

VISSOTTO, Juliano Parizotto et al. Otimização de método analítico para determinação de etanol em Succinato de Metoprolol por cromatografia em fase gasosa rápida. 2023.

SANTOS, Monique Silva dos et al. O impacto da 5ª edição da farmacopeia brasileira: o ensaio de dissolução de comprimidos de Hidroclorotiazida 25mg. 2013.

VOJVODIĆ, Slađana; ČONIĆ, Branislava Srđenović; TOROVIĆ, Ljilja. Safety assessment of herbal food supplements: Ethanol and residual solvents associated risk. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 122, p. 105483, 2023.

de Andrade, Bárbara Mikaela, Maria Carolina Gomes de Lima, and Thalita Lauanna Gonçalves da Silva Ferreira. "A IMPORTÂNCIA DA FARMACOVIGILÂNCIA E DETECÇÃO DE REAÇÕES ADVERSAS A MEDICAMENTOS (FARMÁCIA)." *Repositório Institucional 2.2* (2024).

SUN, Rong et al. Simultaneous Determination of Nine Residual Solvents in Sorafenib Tosylate by Gas Chromatography. **Journal of AOAC International**, v. 104, n. 4, p. 1005-1009, 2021.

TAYLOR, Colin W.; BOWDEN, Stephen A. What about nitrogen? Using nitrogen as a carrier gas during the analysis of petroleum biomarkers by gas chromatography mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1697, p. 463989, 2023.

United States Pharmacopeia, USP. 467 RESUDUAL SOLVENTS.2023

WANG, Dandan et al. Identification of residues in ethylene oxide sterilized hard gelatin capsule shells by gas chromatography-mass spectrometry and development of a simple gas chromatography-flame ionization detector method for the determination of residues. *Journal of Chromatography Open*, v. 2, p. 100061, 2022.

ZOU, Lanfang; GUO, Xun; MCELDERRY, John-David. Platform headspace gas chromatography method for high-throughput determination of residual solvents in pharmaceutical materials. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 229, p. 115349, 2023.

ANEXO A - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO BRANCO

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00

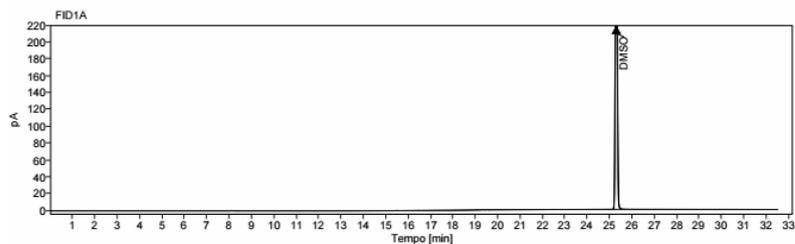
Ensaio: 20240223 175024.dx branco1

Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx

Pasta Destino: D:\CDSP\Projects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rslt

Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 17:58:00 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos

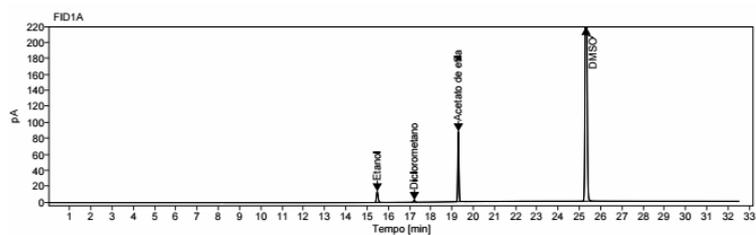


Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
DMSO	25,28	2556		482156		

ANEXO B - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO ADEQUABILIDADE 1

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00
Ensaio: 20240223 114836.dx adequa 1
Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
Pasta Destino: D:\CDSProjects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rslt
Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 11:56:12 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos

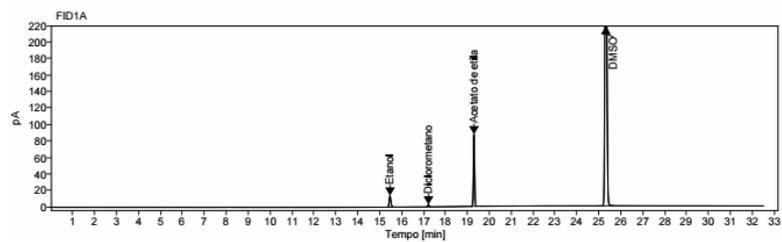


Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
Etanol	15,46	75	294	189050		278
Diclorometano	17,20	13	37	319545	13,24	120
Acetato de etila	19,28	339	307	553239	18,38	445
DMSO	25,29	2308		481765	48,21	2

ANEXO C - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO ADEQUABILIDADE 2

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00
Ensaio: 20240223 122847.dx adequa 2
Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
Pasta Destino: D:\CDSProjects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rslt
Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 12:36:25 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos

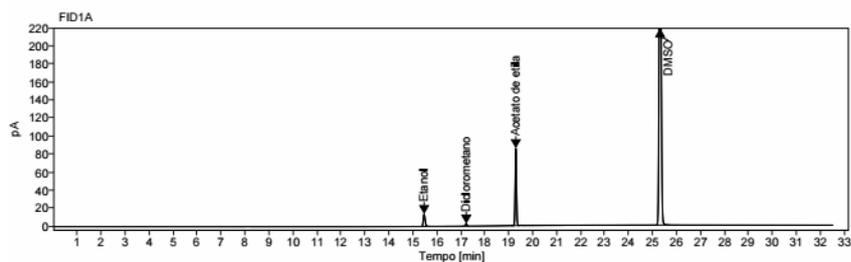


Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
Etanol	15,45	74	290	190114		278
Diclorometano	17,20	12	36	335328	13,47	120
Acetato de etila	19,28	334	302	575586	18,84	444
DMSO	25,30	2743		480401	48,59	2

ANEXO D - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO ADEQUABILIDADE 3

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00
Ensaio: 20240223 130900.dx adequa 3
Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
Pasta Destino: D:\CDSProjects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rslt
Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 13:16:36 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos

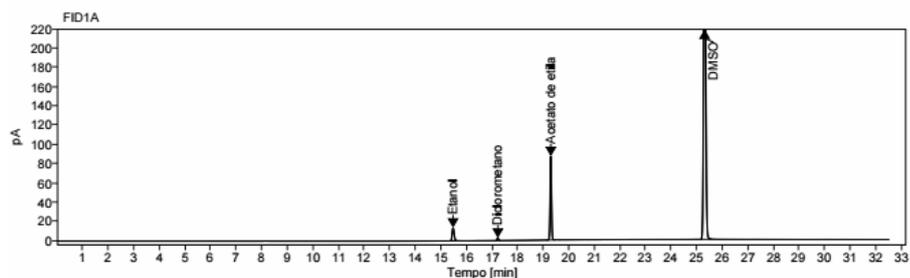


Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
Ethanol	15,45	73	287	192387		275
Diclorometano	17,21	12	35	329340	13,48	118
Acetato de etila	19,27	331	299	567254	18,59	432
DMSO	25,29	2428		482668	48,57	2

ANEXO E - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO ADEQUABILIDADE 4

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00
Ensaio: 20240223 134909.dx adequa 4
Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
Pasta Destino: D:\CDSProjects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rst
Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 13:56:48 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos

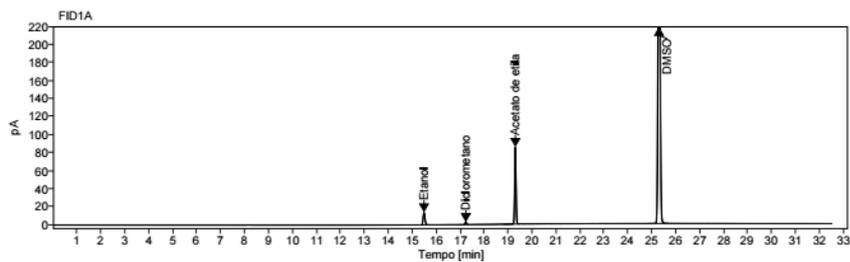


Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
Etanol	15,46	73	287	191618		272
Diclorometano	17,21	12	35	326985	13,38	117
Acetato de etila	19,28	330	298	585340	18,73	442
DMSO	25,29	2033		474591	48,54	2

ANEXO F - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO ADEQUABILIDADE 5

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00
Ensaio: 20240223 142927.dx adequa 5
Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
Pasta Destino: D:\CDSProjects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rslt
Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 14:37:00 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos

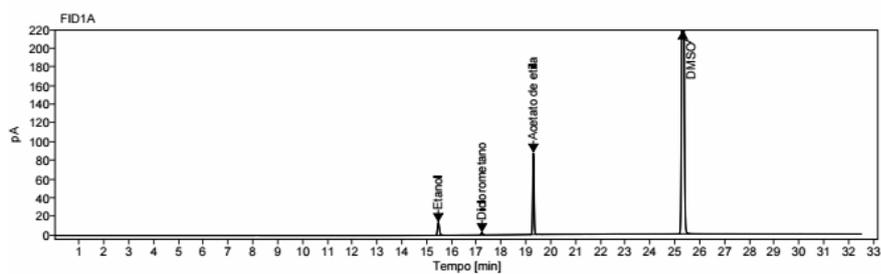


Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
Etanol	15,47	74	291	193326		278
Diclorometano	17,21	12	35	344274	13,52	117
Acetato de etila	19,28	331	299	559753	18,75	436
DMSO	25,28	2555		476771	48,08	2

ANEXO G - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO ADEQUABILIDADE 6

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00
Ensaio: 20240223 150935.dx adequa 6
Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
Pasta Destino: D:\CDSProjects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rslt
Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 15:17:12 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos

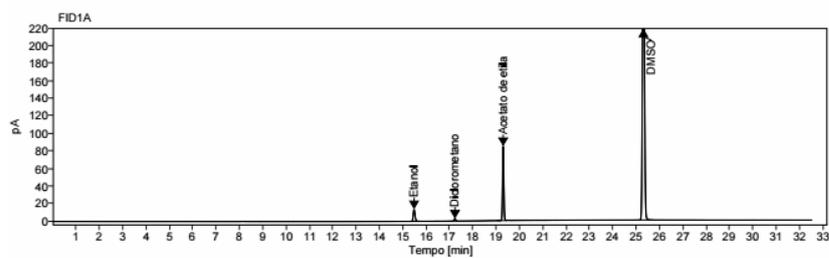


Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
Etanol	15,44	74	293	193491		277
Diclorometano	17,20	12	35	343874	13,67	117
Acetato de etila	19,27	326	295	582603	18,97	440
DMSO	25,30	2975		474854	48,59	3

ANEXO H - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO 1

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00
Ensaio: 20240223 154947.dx padrao 1
Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
Pasta Destino: D:\CDSP\Projects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rslt
Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 15:57:25 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos



Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
Etanol	15,46	73	286	187348		273
Diclorometano	17,21	12	35	341904	13,44	115
Acetato de etila	19,28	323	292	572698	18,82	429
DMSO	25,29	2165		484623	48,62	2

ANEXO J - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO 2

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00

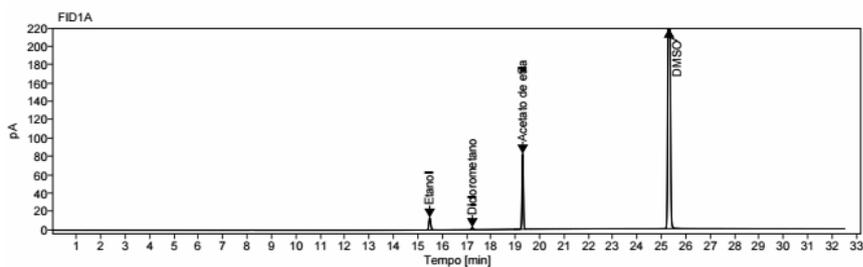
Ensaio: 20240223 162959.dx padrao 2

Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx

Pasta Destino: D:\CDSPProjects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rslt

Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 16:37:37 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos



Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
Etanol	15,46	72	283	192842		267
Diclorometano	17,21	12	34	343077	13,53	114
Acetato de etila	19,28	316	286	569557	18,83	419
DMSO	25,29	2479		481774	48,44	2

ANEXO K - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO 3

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00

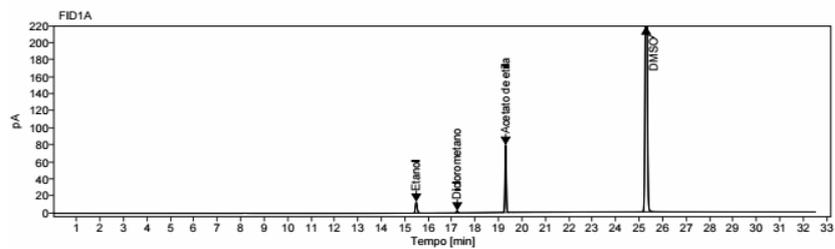
Ensaio: 20240223 171011.dx padrao 3

Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx

Pasta Destino: D:\CDSProjects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rslt

Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 17:17:49 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos

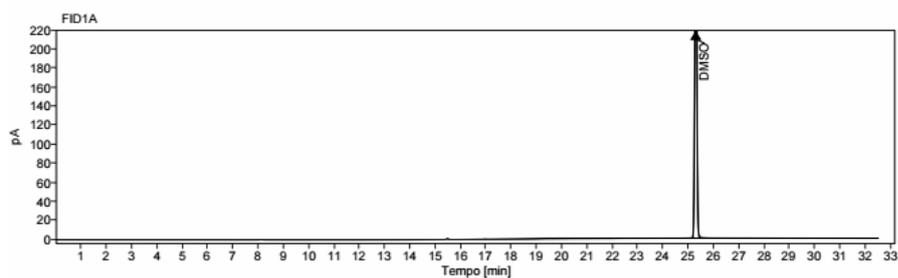


Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
Etanol	15,46	70	276	192888		262
Diclorometano	17,21	11	33	324807	13,36	106
Acetato de etila	19,28	300	271	574267	18,56	400
DMSO	25,27	2302		482188	48,46	2

ANEXO L - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO AMOSTRA 1

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00
Ensaio: 20240223 223147.dx amostra 1
Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
Pasta Destino: D:\CDSProjects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rst
Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 22:39:24 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos

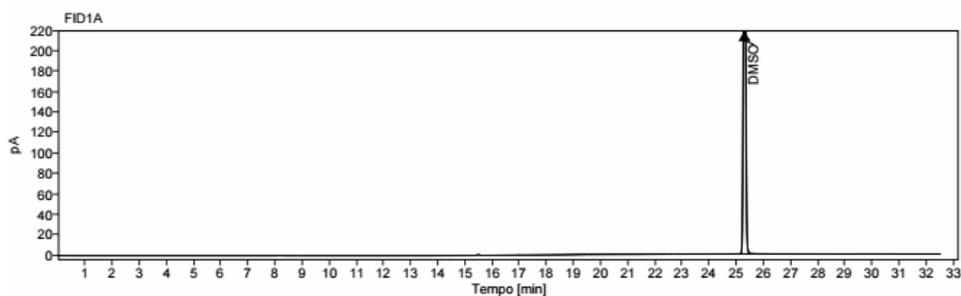


Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
DMSO	25,28	2053		487798		2

ANEXO M - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO AMOSTRA 2

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00
Ensaio: 20240223 231201.dx amostra 2
Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
Pasta Destino: D:\CDSPProjects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rslt
Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 23:19:37 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos

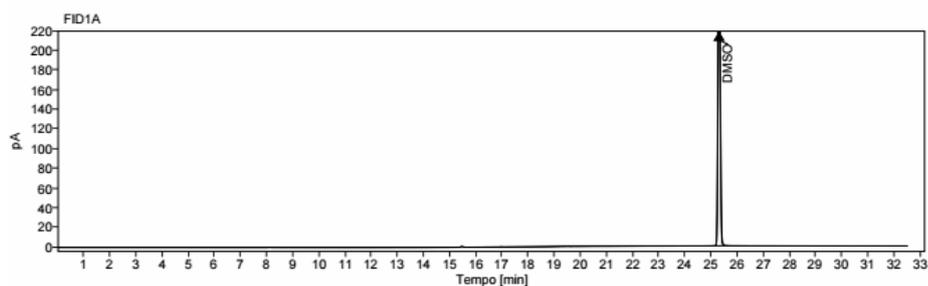


Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
DMSO	25,28	2470		488197		2

ANEXO N - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO AMOSTRA 3

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00
Ensaio: 20240223 235212.dx amostra 3
Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
Pasta Destino: D:\CDSP\Projects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rsl
Data e hora ultima injeção: 23/02/2024 23:59:49 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos

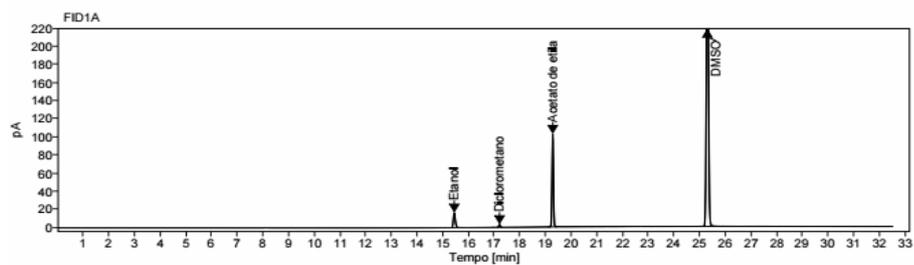


Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
DMSO	25,29	2033		490642		2

ANEXO O - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO AMOSTRA ENRIQUECIDA 1

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00
Ensaio: 20240224 003223.dx amostra Sint 1
Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
Pasta Destino: D:\CDSProjects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rslt
Data e hora ultima injeção: 24/02/2024 00:40:01 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos

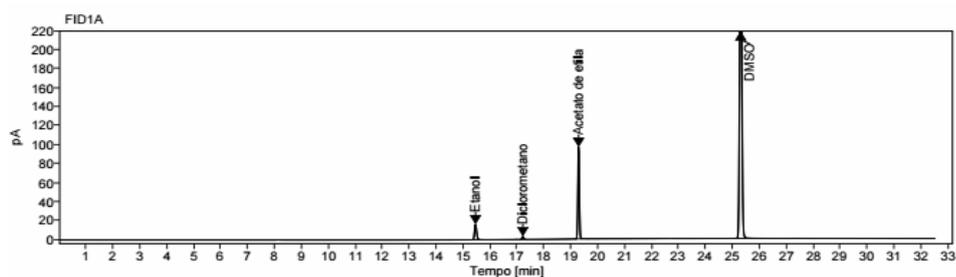


Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
Etanol	15,43	89	351	190036		163
Diclorometano	17,19	15	44	330805	13,50	122
Acetato de etila	19,26	386	349	582703	18,78	614
DMSO	25,28	1815		476852	48,66	1

ANEXO P - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO AMOSTRA ENRIQUECIDA 2

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00
Ensaio: 20240224 011235.dx amostra Sint 2
Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
Pasta Destino: D:\CDSPProjects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rslt
Data e hora ultima injeção: 24/02/2024 01:20:13 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos

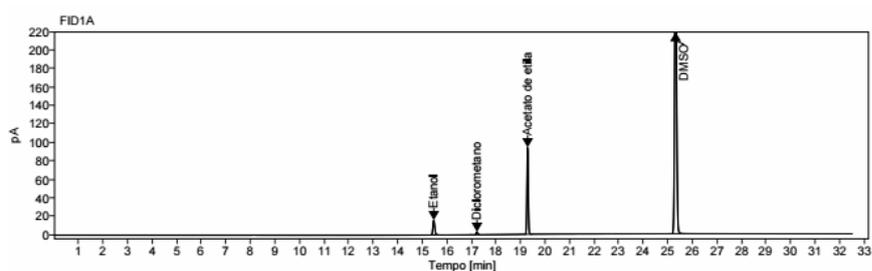


Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
Etanol	15,44	85	336	192150		159
Diclorometano	17,20	14	42	324368	13,42	114
Acetato de etila	19,27	367	332	574784	18,62	584
DMSO	25,29	1984		476217	48,48	2

ANEXO Q - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO AMOSTRA ENRIQUECIDA 3

Nome Sequência: 32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00
Ensaio: 20240224 015248.dx amostra Sint 3
Método: 19072023_Metodo_dapsona.amx
Pasta Destino: D:\CDSProjects\Dapsona\Results\32CMG002-02-2024-02-23 10-04-34-03-00.rst
Data e hora ultima injeção: 24/02/2024 02:00:26 **TAG Instrumento:** 32CMG002-02 **Analista:** Daniel da Mota Castelo Branco

Gráfico com compostos



Nome do Composto	TR (min)	Área	Concentração (µg/mL)	PT	Resolução	S/R
Etanol	15,45	87	343	186783		159
Diclorometano	17,21	14	42	329968	13,40	111
Acetato de etila	19,27	363	328	559293	18,52	570
DMSO	25,30	1722		483401	48,49	1